دگرگونش

Evolution



 @degar_goonesh

 degar.goonesh

Mahsa badiee

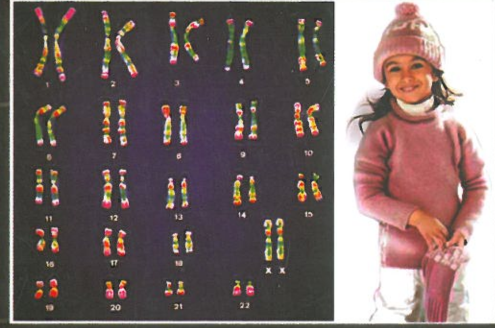
مهسا بدیعی

فرگشت یک فکت علمی است

Biology
Campbell

کتاب مرجع

بیولوژی کمپبل



ویرایش نهم - 2011

3 ژنتیک Genetics

ریس • اوری • کاین
واسرمن • مینورسکای • جکسون



ترجمه:
خانه زیست شناسی

دگرگونش

Evolution



 @degar_goonesh

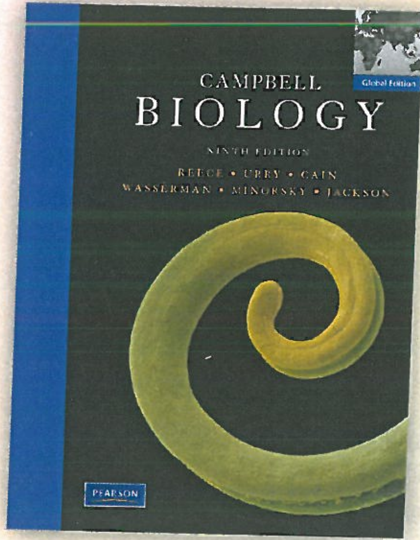
 degar.goonesh

Mahsa badiee

مهسا بدیعی

فرگشت یک فکت علمی است

بسم الله الرحمن الرحیم



کتاب مرجع

بیولوژی کمپبل

ویرایش نهم - ۲۰۱۱

جلد سوم: ژنتیک

ریس • اوری • کاین
واسرمن • مینورسکای • جکسون

مترجمین:
علی سینا شاهی
ساره زیدآبادی
مرضیه صالحی جهرمی
مصطفی نجفی
اقدس حسینی

ویراستاران:
مصطفی پویان
سعید فردی
محمد ابراهیمی

زیر نظر:
دکتر سامان حسینخانی
(عضو هیات علمی دانشگاه تربیت مدرس)

عنوان و نام پدیدآور : کتاب مرجع بیولوژی کمپبل/ نویسندگان ریس ... [و دیگران]؛ گروه ترجمه: مصطفی پویان ... [و دیگران]؛ گروه ویراستاری: مصطفی پویان، سعید فردی، محمد ابراهیمی؛ زیر نظر: سامان حسینخانی

مشخصات نشر : تهران ـ خانهٔ زیست‌شناسی ، ۱۳۹۱.

مشخصات ظاهری : مصور، جدول، نمودار؛ ۲۲×۲۹ س‌م.

شابک : ج. ۱: ۹۰۰۰۰ ریال ؛ ۹۷۸-۹۶۴-۲۶۰۵-۸۳-۵

ج. ۲ / ۱۴۰۰۰۰ ریال؛ ۹۷۸-۹۶۴-۲۶۰۵-۸۲-۸

ج. ۳ / ۲۰۰۰۰۰ ریال؛ ۹۷۸-۹۶۴-۲۶۰۵-۹۹-۶

وضعیت فهرست‌نویسی : فیپا

یادداشت : عنوان اصلی: Campbell biology, 9th.ed. 2011

یادداشت : نویسندگان ریس، اوری، کاین، واسرمن، مینورسکای، جکسون.

یادداشت : گروه ترجمه: مصطفی پویان، علی‌سینا شاهی، شهریار سعیدیان، علیرضا صالحی نوده ...[و دیگران]

یادداشت : در ویراستهای قبلی نیل کمپبل سرشناسه بوده است.

یادداشت : ج. ۲ و ۳ (چاپ اول: ۱۳۹۱) (فیپا).

مندرجات : ج۱. شیمی حیات ـ ج ۲. سلول ـ ج ۳. ژنتیک

موضوع : زیست‌شناسی

شناسه افزوده : ریس، جین Reece, Jane B

شناسهٔ افزوده : کمپبل،نیل،۱۹۴۶- م Campbell, Neil A

شناسهٔ افزوده : پویان پهنه‌کلائی، مصطفی، ۱۳۵۱- ، مترجم، ویراستار

شناسهٔ افزوده : فردی، سعید، ۱۳۵۴- ، ویراستار

شناسهٔ افزوده : ابراهیمی، محمد، ۱۳۴۵- ، ویراستار

شناسهٔ افزوده : حسینخانی، سامان، ناظر

شناسهٔ افزوده : خانه زیست‌شناسی

رده‌بندی کنگره : QH۳۰۸/۲/ک ۸ ب۹۵ ۱۳۹۱

رده‌بندی دیوئی : ۵۷۰

شمارهٔ کتابشناسی ملی : ۲۷۶۰۰۹۲



کتاب مرجع

بیولوژی کمپبل (جلد سوم: ژنتیک)

نام کتاب: .... کتاب مرجع بیولوژی کمپبل

مؤلفین: .... جین ریس و همکاران

ترجمه: .... گروه مترجمین خانه زیست‌شناسی

ویراستار: .... گروه ویراستاری خانه زیست‌شناسی

زیر نظر: .... دکتر سامان حسینخانی

ناشر: .... خانهٔ زیست‌شناسی

ناشر همکار: .... منتشران

نوبت چاپ: .... هشتم/ ۱۳۹۸

حروفچینی و صفحه‌آرایی: .... ناهید پیدایی ـ مصطفی مرادی

ناظر چاپ: .... علیرضا قربانزاده

لیتوگرافی/ چاپ/ صحافی: .... فروز/ کاری/ ثامن الائمه

طراح و گرافیست: .... امید عرفانی

شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۲۶۰۵-۹۹-۶

شمارگان: .... ۵۰۰۰ نسخه

قیمت: .... ۷۰۰۰۰ تومان

تهران، خیابان انقلاب، خیابان فخررازی، خیابان وحید نظری غربی، پلاک ۸۳

کدپستی: ۱۳۱۴۷۳۵۳۱۱   شماره های تماس: ۶۶۴۱۷۱۲۸ - ۶۶۴۷۷۷۴۲ - ۶۶۴۱۳۴۲۳

پروفسور نیل کمپبل

(Neil A.Campbell)



پروفسور نیل آ. کمپبل، نویسندۀ کتاب معـــروف "Biology" و محقـــق برجستۀ دانشگاه کالیفرنیا، در ۲۱ اکتبر ۲۰۰۴ در بیمارســـتان "Redland" پس از تحمل رنج حاصل از نارسایی قلبی، درگذشت. وی در هنگـام مـرگ ۵۸ سـال داشـت. پروفـسور کمپبـل دکترایش را در شاخۀ علوم گیاهی و در سـال ۱۹۷۵ از دانـشگاه کالیفرنیـا دریافت کـرد. وی سـپس در کـالج Pomona، دانشگاه Cornell و نیـز کالج San Bernardino مشغول بـه تدریس شد تا اینکه در سال ۱۹۸۹ بـه گروه زیست‌شناسی دانـشگاه کالیفرنیـا پیوست. وی در تمامی این دانـشگاهها و دانشکده‌ها به عنـوان متخـصص در آمـوزش زیـست‌شناسـی مـشغول بـه فعالیت بود.

دکتر جودی هالت، پروفسور و رئیس دپارتمان علوم گیاهی دانشگاه کالیفرنیا می‌گوید : ***«دکتر کمپبل با بـسیاری از دانشمندان و بزرگان زمان ما دوسـت بـود. وی حـامی سـخاوتمندی بـرای کارکنان، دانشجویان و دپارتمان علوم گیاهی بود».***

مهارت تألیف و ایثار و از خودگذشتگی دکتر کمپبل در آموزش زیست‌شناسی، بر معروفیت گروه زیست‌شناسی دانشگاه کالیفرنیا افزود.

دکتر کمپبل یقیناً به خاطر نوشتن کتاب‌های معروف Biology در سطح بین‌المللی مشهور است. بـه گفتـۀ پیرسـون و بنجـامین کـامینگز، ناشـران کتاب‌های کمپبل، از زمان معرفی کتاب Biology در سال ۱۹۸۷، در حدود ۷۰٪ زیست‌شناسان، پزشکان، بیوتکنولوژیـست‌هـا و در حـدود ۱۰۰٪ از معلمان زیست‌شناسی زیر ۴۰ سال، کتاب Biology را به عنوان کتاب درسی خود انتخاب کرده‌اند. در بخش دانش‌آموزی نیز تخمین زده مـی‌شـود که هر ساله بیش از نیم میلیون دانش‌آموز در سراسر جهان از کتاب Biology کمپبل استفاده کنند.

دکتر آنتونی هانگ، پروفسور زیست‌شناسی مولکولی و سلول گیاهی در دپارتمان زیست‌شناسی دانشگاه کالیفرنیا، در مورد تأثیر پروفـسور کمپبـل بـر حوزۀ زیست‌شناسی و آموزش علوم زیستی می‌گوید:

«کتاب‌هایش چنان معروفند که ماه گذشته، زمانی که برای شرکت در سمیناری در تایوان بودم، سه ویرایش چینی ***مختلف ازکتاب‌هایش را دیدم. هر جا که می‌روم، وقتی می‌گویم از دانشگاه کالیفرنیا هستم، مردم از من می‌پرسند، آیا دکتر کمپبل را می‌شناسم!»***

کتاب‌های بیولوژی کمپبل تا کنون به بیش از ۹ زبان زندۀ دنیا ترجمه شده است. پس از مرگ دکتر کمپبل، از طرف خانواده‌اش درخواست می‌شود تا به جای اهدای تاج گل، هزینه‌اش را برای کمک به بودجۀ تحقیقاتی دانشجویانش ، به حساب دانشگاه کالیفرنیـا واریـز کننـد. در سـال ۲۰۱۱ گـروه مؤلفین کتاب Biology ، به پاس سال‌ها خدمات ارزشمند نیل کمپبـل در زمینـۀ آمـوزش زیـست‌شناسـی، از ویـرایش نهـم، عنـوان کتـاب را بـه CAMPBELL BIOLOGY تغییر داده است.

روحش شاد و راهش پر رهرو باد

دربارهٔ نویسندگان



تیم نویسندگان نهمین ویرایش بیولوژی کمپبل، نشان‌دهندهٔ گروهی از متخصصین بنام در شاخه‌های مختلف زیست‌شناسی است. یقیناً یکی از دلایل موفقیت این کتاب در جهان، همین گروه منحصربه‌فرد می‌باشد.

Jane B. Reece



جین ریس، سرگروه تیم نویسندگان نهمین ویرایش، همکار نیل کمپبل بود. وی در تمام ویرایش‌های کتاب بیولوژی کمپبل شرکت داشته است. پیش‌تر، جین ریس در کالج Middlesex County و کالج Queensborough Community زیست‌شناسی عمومی را تدریس می‌کرد. وی دارای مدرک لیسانس بیولوژی از دانشگاه هاروارد، فوق‌لیسانس میکروبیولوژی از دانشگاه Rutgers، و دکترای باکتریولوژی از دانشگاه کالیفرنیا است. ریس هنگامی که دانشجوی دکتری و فوق دکتری بود، برروی نوترکیبی ژنتیکی در باکتری‌ها تحقیق می‌کرد. وی علاوه بر این کتاب، نویسندهٔ کتاب‌های *Biology: Concepts & Connections*، *Essential Biology*، و *The World of the Cell* می‌باشد.

Michael L. Cain



مایکل کاین (بخش‌های ۴ و ۵) یک زیست‌شناس تکاملی و اکولوژیست است که اکنون به‌طور تمام وقت مشغول تألیف می‌باشد. مایکل دارای لیسانس زیست‌شناسی و ریاضی از کالج Bowdoin، مدرک فوق‌لیسانس زیست‌شناسی از دانشگاه Brown، و دارای درجهٔ دکترای اکولوژی و زیست‌شناسی تکاملی از دانشگاه Cornell می‌باشد. وی در دانشگاه نیومکزیکو و مؤسسهٔ تکنولوژی Rose-Hulman، گسترهٔ وسیعی از دوره‌های تدریس، از جمله زیست‌شناسی عمومی، اکولوژی، تکامل، و زیست‌شناسی حفظ ذخایر زیستی را تدریس می‌کرده است. مایکل کاین نویسندهٔ ده‌ها مقالهٔ علمی دربارهٔ موضوعاتی چون رفتار گیاه‌خواری در حشرات، پراکنش دوربرد دانه‌ها، و گونه‌زایی در جیرجیرک‌ها است. وی علاوه‌بر کارش در بیولوژی کمپبل، ناظر تألیف یک کتاب مرجع در زمینهٔ اکولوژی است.

Lisa A. Urry



لیزا یوری (فصل ۱ و بخش‌های ۳-۱)، یک زیست‌شناس تکوینی و رئیس کنونی دپارتمان بیولوژی در کالج Mills است. لیزا پس از فارغ‌التحصیلی از دانشگاه Tufts در بیولوژی، دکترای خود را در زیست‌شناسی تکوینی و مولکولی در مؤسسهٔ تکنولوژی ماساچوست (MIT) تکمیل کرد. وی تعدادی مقالات تحقیقی منتشر کرده است، که بیش‌تر آنها بر روی بیان ژن طی تکوین جنینی و لاروی در خارپوستان دریایی متمرکز هستند. لیزا همچنین عمیقاً متعهد به اعطای فرصت برای زنان در تحقیق و آموزش علوم است.



Steven A. Wasserman

استیون واسرمن (بخش ۷)، پروفسور دانشگاه کالیفرنیای سان‌دیه‌گو (UCSD) است. وی لیسانس زیست‌شناسی خود را از دانشگاه هاروارد و دکترای خود را در علوم زیستی از MIT گرفت. استیو از طریق تحقیق بر روی مکانیسم‌های تنظیمی در مگس دروزوفیلا، وارد زمینه‌های زیست‌شناسی تکوینی، تولیدمثل و ایمنی شد. وی درحال حاضر در دانشگاه پزشکی تگزاس و UCSD، ژنتیک، تکوین و فیزیولوژی را برای دانشجویان پزشکی تدریس می‌کند. او همچنین مشاور و راهنمای پایان‌نامهٔ بیش از ده‌ها دانشجوی دکترا بوده است.



Robert B. Jackson

رابرت جکسون (بخش ۸)، پروفسور بیولوژی و رئیس علوم محیطی در دانشگاه Duke است. رابرت دارای مدرک مهندسی شیمی از دانشگاه Rice، فوق‌لیسانس در اکولوژی و آمار و دکترای اکولوژی از دانشگاه Utah State است. رابرت برای سالیان زیادی برنامهٔ دانشگاه Duke را در زمینهٔ اکولوژی رهبری کرد. وی جوایز متعددی را دریافت کرده است که از جملهٔ آن جایزهٔ Presidential Early Career Award در زمینهٔ علوم و مهندسی از مؤسسهٔ ملی علوم می‌باشد. رابرت جکسون از نوشتن به سبک پاپ لذت می‌برد. او علاوه‌بر این، یک کتاب تجاری دربارهٔ محیط (The Earth Remains Forever) و دو کتاب شعر برای بچه‌ها (Weekend mischief و Animal Mischief) منتشر کرده است.



Peter V. Minorsky

پیتر مینورسکای (بخش ۶)، پروفسور کالج Mercy در نیویورک است؛ وی در آنجا تکامل، اکولوژی، گیاه‌شناسی، و زیست‌شناسی عمومی را تدریس می‌کند. پیتر لیسانس زیست‌شناسی خود را از کالج Vassar و دکترای خود را در گرایش فیزیولوژی گیاهی از دانشگاه Cornell دریافت کرد. او همچنین نویسندهٔ علمی مجلهٔ *Plant Physiology* است. پیتر پس از فلوشیپ فوق دکترا در دانشگاه ویسکانسین، در کالج Kenyon، کالج Union، دانشگاه Western Connecticut State، و کالج Vassar مشغول به تدریس شد. وی درحقیقت یک الکتروفیزیولوژیست است که پاسخ گیاهان به استرس را مطالعه می‌کند. پیتر در سال ۲۰۰۸ به‌خاطر شیوهٔ منحصربه‌فردش در آموزش، *جایزهٔ ویژهٔ بهترین روش تدریس* را از آن خود کرده است.

پیشگفتار

راستی که امروز چه راحت راجع به کتاب‌های *بیولوژی* صحبت می‌کنیم؛ **کمپبل، سولومون، لایف، میدر!** کتاب‌هایی که در زمان‌های نه‌چندان دور برای دبیران و دانش‌آموزان ما اصلاً شناخته شده نبودند. اکنون در سال ۲۰۱۲ کتاب کمپبل ۲۰۱۱ را ترجمه و با کیفیتی کاملاً متفاوت تقدیم شما دوستان می‌کنیم. باور کنید این فراتر از یک موفقیت بزرگ است؛ شاید بشود گفت یک *اتفاق منحصربه‌فرد و ممتاز* در زیست‌شناسی کشور! ارزش و تأثیر این حرکت خانه زیست‌شناسی بسیار فراتر از چارچوب المپیاد، کنکور و دبیرستان است. در بسیاری از دانشگاه‌های کشور زیست‌شناسی عمومی را از روی کمپبل تدریس می‌کنند. حتی در سال گذشته در آزمون‌های *فوق‌لیسانس* و *دکتری* وزارت علوم نیز سؤال‌های درس زیست‌شناسی عمومی بر اساس کتاب بیولوژی کمپبل طراحی و برگزار شده است. **راستی چرا این کتاب تا این حد در میان زیست‌شناسان محبوب شده است؟**

آنچه که باعث این همه اتفاقات میمون و ارزشمند شده است جایگاه جهانی این کتاب، محتوای علمی آن و زاویهٔ نگاه متفاوت آن است! چگونه می‌شود که یک کتاب تا این حد در دنیا خواهان پیدا می‌کند؟

به طوری که امروز تخمین زده می‌شود بیش از نیم‌میلیون دانش‌آموز در سراسر جهان از کتاب کمپبل استفاده می‌کنند و اینچنین است که *امروز در جامعهٔ زیست‌شناسی کشور، بیولوژی کمپبل تبدیل به یک فرهنگ شده است!* **فرهنگی دوست‌داشتنی، علمی و تأثیرگذار.**

نکتهٔ برجسته و مورد علاقهٔ خانه زیست‌شناسی در این کتاب، نمونهٔ پژوهش‌های مطرح در هر فصل است. پژوهش‌هایی که به طور عمده در سال‌های ۲۰۰۰ به بعد در مجلات فوق‌العاده معتبری چون ***Nature*** و ***Science*** به چاپ رسیده است. متأسفانه شاید امروز برای اساتید، دانشجویان و مراکز تحقیقاتی ما چاپ یک مقالهٔ پژوهشی در مجلهٔ *Nature* **یک آرزوی دست‌نیافتنی** باشد. سعی کردیم این پژوهش‌ها و منابع آن کاملاً ویژه باشد تا از دورهٔ دبیرستان دانش‌آموزان ما با این گونه مجلات آشنایی کامل داشته باشند؛ کاری که در دیگر نقاط دنیا انجام می‌دهند. در معرفی این پژوهش‌ها و مجلات به شدت نیازمند همراهی دبیران محترم هستیم.

و اما کتاب مرجع بیولوژی کمپبل مهم‌ترین نوشتهٔ ***Neil A. Campbell*** است که پس از درگذشت وی توسط Reece و همکاران، ویرایش و چاپ شده است. این کتاب بی‌نظیر در هشت موضوع متفاوت به بررسی دنیای زنده می‌پردازد. ***شیمی حیات، سلول، ژنتیک، مکانیسم تکامل، تاریخچهٔ تکامل و تنوع زیستی، ساختار و عمل گیاهان، ساختار و عمل جانوران و اکولوژی*** موضوعاتی هستند که هر یک در چندین فصل و با زیبایی‌های کاملاً منحصربه‌فرد مورد بررسی دقیق قرار گرفته‌اند.

خانه‌زیست‌شناسی بر اساس استراتژیِ نیاز دانش‌پژوهان و قدرت خرید متفاوت آنها، این کتاب ارزشمند و مرجع را در **هشت جلد جداگانه** و با عناوین ذکرشده تقدیم علاقمندان خواهد کرد.

فهرست مطالب



فصل ۱۵ اساس کروموزومی وراثت



فصل ۱۶ اساس مولکولی وراثت



فصل ۱۷ از ژن تا پروتئین



فصل ۲۰ فن آوری زیستی



فصل ۲۱ ژنوم‌ها و تکامل آن‌ها

UNIT III

ژنتیک

عناوین فصل‌ها

13

میوز و چرخه‌های زندگی جنسی



شکل ۱-۱۳ چه چیزی مسئول شباهت‌های خانوادگی است؟

مفاهیم کلیدی

۱-۱۳ فرزندان از طریق کروموزوم‌ها ژن‌ها را از والدین دریافت می‌کنند

۲-۱۳ لقاح و میوز در چرخه‌های زندگی جنسی تناوب دارند

۳-۱۳ میوز، تعداد مجموعه‌های کروموزومی را از دیپلوئید به هاپلوئید کاهش می‌دهد

۴-۱۳ تنوع ژنتیکی حاصل از چرخه‌های زندگی جنسی در تکامل نقش دارد

نگاه کلی

تنوع

اغلب افرادی که تولدها را اعلام می‌کنند، جنسیت کودک را ذکر می‌کنند و نیازی نمی‌بینند که مشخص کنند نوزاد آنها یک انسان است! توانایی جانداران در تولید انواعی مثل خودشان، یکی از ویژگی‌های حیات است – فیل‌ها، فیل‌های کوچک را تولید می‌کنند، و درختان بلوط، نونهال‌های بلوط را به‌وجود می‌آورند. استثناهای این قانون تنها در داستان‌های شورانگیز اما مشکوک روزنامه‌های زرد دیده می‌شوند.

قانون دیگری که اغلب بدیهی به‌نظر می‌رسد این است که زاده‌ها بیش از آنچه که به افراد غیرخویشاوند شبیه باشند، به والدین خود شباهت دارند. اگر به اعضای خانوادهٔ نشان داده شده در **شکل ۱-۱۳** نگاه کنید – سیسی اسپاسک (Sissy Spacek) هنرپیشه و همسرش جک فیسک (Jack Fisk) با دخترانشان مادیسون و شویلر (Schuyler) فیسک – می‌توانید شباهت‌هایی بین آنها مشاهده کنید. انتقال صفات از یک نسل به نسل بعدی، توارث یا **وراثت** نامیده می‌شود (از کلمهٔ لاتین *heres* به معنای وراثت گرفته شده است). اما، دختران و پسران با والدین و خواهر و برادرهای خودشان یکسان نیستند. به موازات شباهت‌های وراثتی، **تنوع** نیز وجود دارد. هزاران سال است که کشاورزان از این مشاهدات بهره‌برداری می‌کنند و گیاهان و جانورانی با ویژگی‌های متفاوت و مورد نظر خود را به‌وجود می‌آورند. اما مکانیسم‌های زیستی که موجب شباهت و تنوع وراثتی می‌شوند (که ما آن را شباهت خانوادگی می‌نامیم) کدامند؟ پاسخ این سؤال، تا قبل از پیشرفت ژنتیک در قرن بیستم، برای زیست‌شناسان پوشیده مانده بود.

ژنتیک علم مطالعهٔ وراثت و تنوع وراثتی است. در این بخش، شما در مورد ژنتیک در سطح موجود زنده، سلول و مولکول مطالعه خواهید کرد. از طرف دیگر، خواهید آموخت که چگونه ژنتیک پیشرفته، در پزشکی و کشاورزی انقلاب ایجاد می‌کند و از شما خواسته خواهد شد که به برخی سؤالات اجتماعی و اخلاقی ناشی از توانایی انسان در دست‌کاری DNA، که مادهٔ ژنتیکی است، توجه نمایید. در پایان این بخش، یاد می‌گیرید که ژنتیک‌دانان در حل این معما که چگونه گیاهان و جانوران چندسلولی از یک سلول تخم لقاح‌یافته به‌وجود می‌آیند، نقشی اساسی داشته‌اند. در واقع، کشفیات و روش‌های ژنتیکی، پیشرفت در تمام بخش‌های زیست‌شناسی، از زیست‌شناسی سلولی گرفته تا فیزیولوژی، زیست‌شناسی تکوینی، رفتار و حتی اکولوژی را سرعت می‌بخشد.

ما در این فصل مطالعهٔ خود در ژنتیک را با بررسی اینکه چگونه در موجودات دارای تولیدمثل جنسی، کروموزوم‌ها از والدین به فرزندان می‌رسند، آغاز می‌کنیم. فرایندهای **میوز** (یک نوع خاص از تقسیم سلولی) و ***لقاح*** (ترکیب شدن اسپرم با تخمک)، طی چرخهٔ زندگی جنسی، تعداد کروموزوم‌ها را در گونه‌ها ثابت نگه می‌دارند. همچنین مکانیسم‌های سلولیِ میوز و تفاوت‌های آن را با میتوز شرح خواهیم داد. در نهایت، اینکه چگونه میوز و لقاح در تنوع ژنتیکی مشارکت دارند، مانند تنوع مشاهده شده در خانوادهٔ نشان داده شده در شکل ۱-۱۳ را مورد توجه قرار خواهیم داد.

۱-۱۳ فرزندان از طریق کروموزوم‌ها ژن‌ها را از والدین دریافت می‌کنند

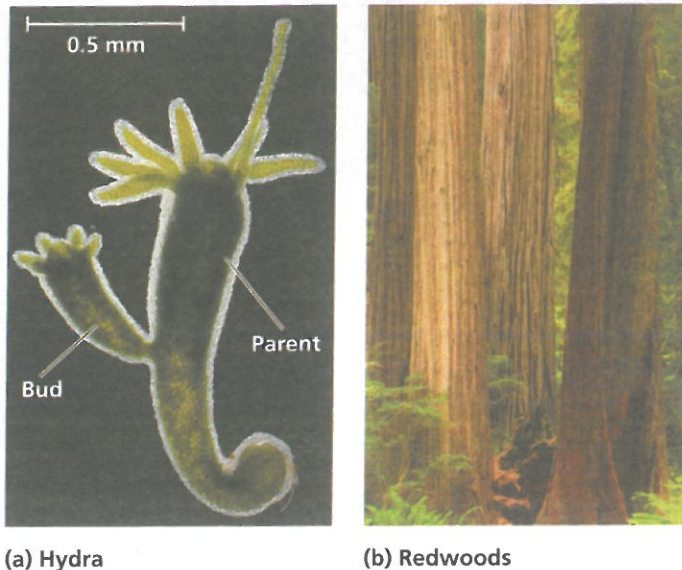
ممکن است دوستی به شما بگوید که شما خال‌های مادرتان یا چشمان پدرتان را دارید. ولی والدین واقعاً خال‌ها، چشم‌ها، موها یا هر ویژگی اختصاصی دیگر را به فرزندان خود نمی‌دهند. پس عملاً چه چیزی انتقال می‌یابد؟

وراثت ژن‌ها

والدین، اطلاعات به رمز درآمده به شکل واحدهای وراثتی، تحت عنوان **ژن**[1] را به فرزندان خود انتقال می‌دهند. ده‌ها هزار ژن گرفته‌شده از پدر و مادر، ژنوم ما را تشکیل می‌دهند. این ارتباط ژنتیکی با والدین، دلیل شباهت‌های خانوادگی مانند رنگ چشم یا خال‌ها است. هم‌چنان‌که ما از تخم لقاح‌یافته تا بزرگسالی نمو پیدا می‌کنیم، ژن‌های ما ویژگی‌های اختصاصی معینی را که پدیدار می‌شوند، برنامه‌ریزی می‌کنند.

ژن‌ها بخش‌هایی از DNA هستند. شما در فصل‌های ۱ و ۵ آموختید که DNA، پلی‌مری از چهار نوع مونومر مختلف به‌نام نوکلئوتید است. همان‌طورکه اطلاعات چاپ‌شده، به شکل توالی‌های معنی‌داری از حروف هستند، اطلاعات وراثتی نیز به شکل توالی خاصی از نوکلئوتیدهای هر ژن انتقال می‌یابند. زبان، یک سری علائم نمادی است. مغز، کلمات و جملات را به تصاویر و عقاید ذهنی ترجمه می‌کند. برای مثال، هنگام خواندن «سیب» آنچه را که شما تصور می‌کنید هیچ شباهتی به شکل کلمهٔ سیب ندارد. به‌طور مشابهی، سلول‌ها «جملات» ژنتیکی را به خال‌ها و ویژگی‌های دیگری ترجمه می‌کنند که هیچ شباهتی به خود ژن‌ها ندارند. بیشتر ژن‌ها ساختن آنزیم‌های معین و پروتئین‌های دیگری را در سلول برنامه‌ریزی می‌کنند، که این پروتئین‌ها صفات وراثتی جاندار را ایجاد می‌نمایند. برنامه‌ریزی این صفات به‌شکل DNA، یکی از موضوعات وحدت‌بخش در زیست‌شناسی است.

اساس مولکولیِ انتقال صفات وراثتی، در مضاعف شدن دقیق DNA نهفته است که نسخه‌هایی از ژن‌ها را تولید می‌کند و این ژن‌ها می‌توانند از والدین به فرزندان منتقل شوند. در گیاهان و جانوران، سلول‌های تولیدمثلی به‌نام **گامت‌ها**[2]، انتقال‌دهندهٔ ژن‌ها از یک نسل به نسل بعد هستند. طی لقاح، گامت‌های نر و ماده (اسپرم و تخمک) به هم می‌پیوندند، و درنتیجه ژن‌های هر دو والد به فرزندان می‌رسند.



◀ شکل ۲-۱۳ **تولیدمثل غیرجنسی در دو جاندار پرسلولی.** *(a) این جانور پرسلولی نسبتاً ساده (هیدر) از طریق جوانه‌زدن تولیدمثل می‌کند. جوانه (یک توده از سلول‌های در حال تقسیم میتوز) به‌شکل یک هیدر کوچک تکوین می‌یابد، به‌طوری‌که از والد جدا می‌شود (LM). (b) کلیهٔ درختان در این حلقه به طریق غیر جنسی از یک درخت والدی واحد به‌وجود آمده‌اند، که کُندهٔ آن در مرکز حلقه قرار دارد.*

به‌جز مقادیر بسیار جزئی DNA در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها، DNAی یک سلول یوکاریوت به‌صورت کروموزوم‌هایی در هسته قرار دارد. هر یک از گونه‌های موجودات زنده، تعداد معینی کروموزوم دارند. برای مثال، انسان‌ها در تمام سلول‌های پیکری خود (همهٔ سلول‌های بدن به‌جز گامت‌ها و پیش‌سازهایشان) ۴۶ کروموزوم دارند. هر کروموزوم شامل یک مولکول DNAی طویل است که به‌طور دقیقی در اتصال با پروتئین‌های گوناگون پیچ خورده است. یک کروموزوم شامل چندصد تا چند هزار ژن است که هر ژن توالی خاصی از نوکلئوتیدها را در مولکول DNA دارد. موقعیت معین ژن در طول یک کروموزوم، **لوکوسِ**[3] ژن نامیده می‌شود. دارایی ژنتیکی ما شامل ژن‌های روی کروموزوم‌هایی است که از والدین خود به ارث برده‌ایم.

مقایسهٔ تولیدمثل جنسی و غیرجنسی

فقط موجوداتی که تولیدمثل غیرجنسی دارند فرزندانی کاملاً شبیه خودشان (نظیر هم) تولید می‌کنند. در **تولیدمثل غیرجنسی**[4]، یک فرد، تنها والد است و کپی تمام ژن‌های خود را به فرزندش منتقل می‌کند. برای مثال، موجودات یوکاریوتی تک‌سلولی می‌توانند به‌طور غیرجنسی از طریق تقسیم سلولیِ میتوز تولیدمثل کنند که در آن، DNA کپی شده و به‌طور مساوی به دو سلول دختر

1- Gene
2- Gametes
3- Locus (Loci ،جمع)
4- Asexual reproduction

می‌رسد. ژنوم فرزندان واقعاً کپی‌های دقیق ژنوم والدین است. بعضی موجودات زندهٔ پرسلولی نیز قادرند تولیدمثل غیرجنسی داشته باشند (**شکل ۲- ۱۳**). چون سلول‌های فرزند از طریق میتوز در والد حاصل شده‌اند، معمولاً از نظر ژنتیکی مشابه والد خود هستند. فردی که به صورت غیرجنسی تولیدمثل می‌کند، یک **کلون**[1] ایجاد می‌نماید. کلون، یک گروه از افرادی است که از نظر ژنتیکی مشابه یکدیگرند. گاهی در تولیدمثل غیرجنسیِ موجودات زنده، تفاوت‌های ژنتیکی براثر تغییر در DNA، که جهش نام دارد، ایجاد می‌شوند. جهش در فصل ۱۷ مورد بحث و بررسی قرار خواهد گرفت.

در **تولیدمثل جنسی**[2]، دو والد، فرزندانی را به‌وجود می‌آورند که هر یک مقدار یکسانی ژن را از دو والد خود می‌گیرد. برخلاف یک کلون، فرزندان حاصل از تولیدمثل جنسی از نظر ژنتیکی با هر دو والد و نیز خواهر و برادرهای خود متفاوت هستند. آنها علی‌رغم داشتن شباهت، با یکدیگر تفاوت دارند و دقیقاً نسخهٔ مشابه یکدیگر نیستند. تنوع ژنتیکی همانند آنچه در تصویر ۱- ۱۳ نشان داده شده، یک نتیجهٔ بسیار مهم تولیدمثل جنسی است. چه مکانیسم‌هایی این تنوع ژنتیکی را تولید می‌کنند؟ پاسخ این سؤال در رفتار کروموزوم‌ها طی چرخهٔ زندگی جنسی نهفته است.

پرسش‌های مبحث ۱-۱۳

۱. چگونه صفات والدین (مانند رنگ مو) به فرزندان آنها انتقال می‌یابند؟

۲. توضیح دهید که علت اینکه زاده‌های حاصل از تولیدمثل غیرجنسی دارای تشابه ژنتیکی با یکدیگر و والد خود هستند، چیست؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** یک گیاه‌شناس به پرورش گل ارکیده پرداخته است و سعی دارد برخی صفات موردنظر خود را در آن ایجاد کند. پس از گذشت سال‌ها وی موفق به انجام این‌کار شد، حال برای تولید انبوه این گیاه بهتر است از دانهٔ گیاه استفاده کند یا آن را کلون کند؟ چرا؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۲-۱۳ لقاح و میوز در چرخه‌های زندگی جنسی تناوب دارند

یک **چرخهٔ زندگی**[3]، توالی نسل به نسل از مراحلی در تاریخچهٔ تولیدمثلی یک موجود زنده است که از لقاح (تشکیل تخم) شروع می‌شود و تا تولید فرزندان خود ادامه می‌یابد. در این بخش، ما انسان را به‌عنوان یک مثال برای پیگیری رفتار کروموزوم‌ها در چرخه‌های زندگی به‌کار می‌بریم. ما این مبحث را با توجه به تعداد کروموزوم‌ها در سلول‌های پیکری و گامت‌های انسان آغاز می‌کنیم. سپس خواهید دید که چگونه رفتار کروموزوم‌ها با چرخهٔ زندگی انسان و انواع دیگر چرخه‌های زندگی ارتباط دارد.

مجموعه‌های کروموزوم‌ها در سلول‌های انسان

در انسان، هر سلول پیکری[4] ۴۶ کروموزوم دارد. طی میتوز، کروموزوم‌ها به‌قدر کافی فشرده می‌شوند، به‌طوری‌که زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند. از آن‌جایی‌که کروموزوم‌ها از نظر اندازه، موقعیت سانترومر، و الگوی نوارهای رنگی که به‌وسیلهٔ رنگ‌های اختصاصی تولید می‌کنند با یکدیگر متفاوت هستند، هنگامی‌که به مقدار کافی متراکم شدند، می‌توانند از طریق بررسی‌های میکروسکوپی از یکدیگر تشخیص داده شوند.

بررسی دقیق ریزنگارِ ۴۶ کروموزوم انسان در یک سلول درحال میتوز، نشان می‌دهد که از هر نوع کروموزوم، دو عدد وجود دارند. این موضوع وقتی آشکار می‌شود که تصاویر کروموزوم‌ها به‌صورت جفت جفت و از طویل‌ترین کروموزوم به کوچک‌ترین آنها، مرتب می‌شوند. نمایش این کروموزوم‌های مرتب‌شده، **کاریوتیپ**[5] نامیده می‌شود (**شکل ۳- ۱۳**). هر جفت کروموزوم، دارای طول مساوی، موقعیت مشابه سانترومر، و الگوی رنگ‌آمیزی مشابه هستند. این کروموزوم‌ها، **کروموزوم‌های هومولوگ**[6] یا همتا نامیده می‌شوند. هر یک جفت کروموزوم، ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفات وراثتی مشابهی را در بر دارند. برای مثال، اگر یک ژن برای رنگ چشم در یک لوکوس خاص روی یک کروموزوم معین قرار داشته باشد، پس همتای این کروموزوم نیز یک ژن تعیین‌کنندهٔ رنگ چشم در همان لوکوس خود خواهد داشت.

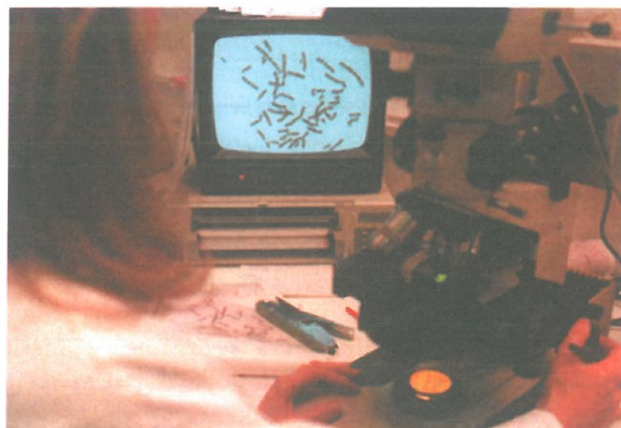
برای الگوی عمومی کروموزوم‌های همتا در سلول پیکری انسان، یک استثنای مهم وجود دارد که دو کروموزوم متفاوت به‌نام‌های X و Y هستند. زنان یک جفت کروموزوم همتای X دارند (XX) اما مردان یک کروموزوم X و یک کروموزوم Y دارند (XY). فقط قسمت‌های کوچکی از X و Y همتای یکدیگرند. بیشتر ژن‌هایی که روی کروموزوم X هستند، همتایی روی کروموزوم کوچک Y ندارند و کروموزوم Y ژن‌هایی را دارد که روی X همتایی ندارند. از آن‌جایی‌که کروموزوم‌های X و Y، جنسیت یک فرد را تعیین می‌کنند، این کروموزوم‌ها، **کروموزوم‌های جنسی**[7] و سایر کروموزوم‌ها، **اتوزوم**[8] نامیده می‌شوند.

1- Clone
2- Sexual reproduction
3- Life cycle
4- Somatic cell
5- Karyotype
6- Homologous chromosomes
7- Sex chromosomes
8- Autosomes

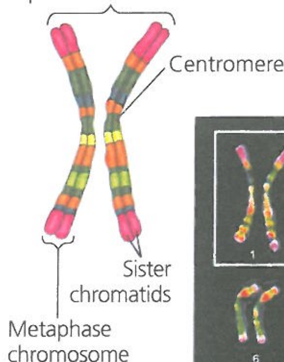
شکل ۳-۱۳ روش تحقیق

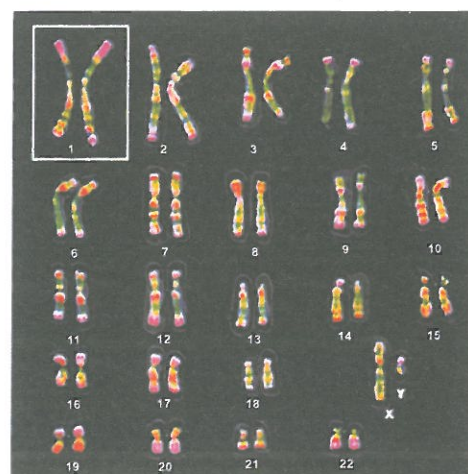
آماده‌سازی یک کاریوتیپ

کاربرد: کاریوتیپ، نشان دادن کروموزوم‌های متراکم مرتب‌شده به‌صورت جفت جفت است. تهیهٔ کاریوتیپ می‌تواند برای نشان دادن ناهنجاری در تعداد کروموزوم‌ها یا نقص‌های کروموزومی مربوط به اختلالات وراثتی خاص مانند سندرم داون مفید باشد.



تکنیک: کاریوتیپ‌ها از سلول‌های پیکری جداشده‌ای تهیه می‌شوند که با یک دارو برای انجام میتوز تحریک می‌گردند و سپس برای چند روز در محیط کشت رشد داده می‌شوند. یک اسلاید از سلول‌های متوقف‌شده در متافاز، رنگ‌آمیزی می‌شود و سپس با میکروسکوپ مجهز به یک دوربین دیجیتال مشاهده می‌گردد. یک ریزنگار دیجیتال از کروموزوم‌ها در یک کامپیوتر وارد می‌شود و کروموزوم‌ها براساس اندازه و شکل به‌صورت جفت‌جفت به‌طور الکترونیکی مرتب می‌شوند.





نتایج: این کاریوتیپ، کروموزوم‌های یک مرد طبیعی را نشان می‌دهد. اندازهٔ کروموزوم، موقعیت سانترومر، و الگوی نوارهای رنگ‌شده به‌شناسایی کروموزوم‌های خاص کمک می‌کنند. اگرچه در کاریوتیپ مشکل تشخیص داده می‌شود، ولی هر کروموزوم متافازی شامل دو کروماتید خواهری است که به یکدیگر متصل هستند (نمودار را مشاهده نمایید).

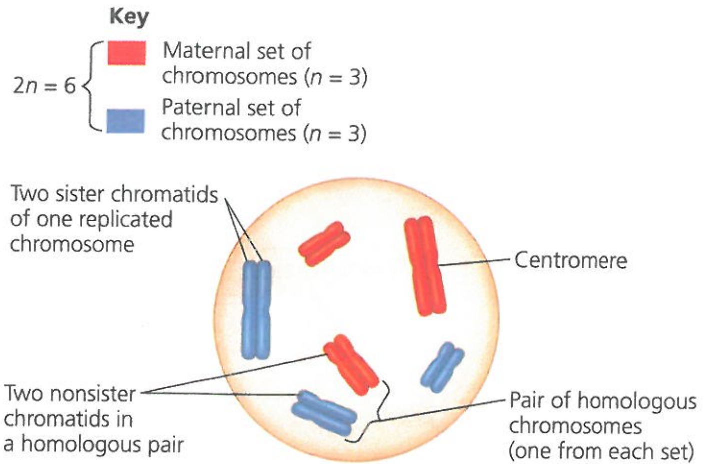
جفت بودن کروموزوم‌های همتا در هر سلول پیکری انسان، نتیجهٔ منشأ جنسیِ ماست. ما از هریک از والدین خود یک کروموزوم از هر جفت را می‌گیریم. بنابراین ۴۶ کروموزوم سلول پیکری ما در واقع دو مجموعهٔ ۲۳ کروموزومی هستند که یک مجموعه، مادری (از مادر) و مجموعهٔ دیگر پدری (از پدر) است. تعداد کروموزوم‌ها در هر مجموعه به‌صورت n نشان داده می‌شود. هر سلول که دارای دو مجموعه کروموزوم باشد، **سلول دیپلوئید**[1] نامیده می‌شود و یک عدد کروموزومی دیپلوئید دارد که به اختصار $2n$ گفته می‌شود. برای انسان، عدد دیپلوئید، ۴۶ ($2n = 46$) است که تعداد کروموزوم‌ها را در هر سلول پیکری ما نشان می‌دهد. در سلولی که سنتز DNA صورت می‌گیرد، تمام کروموزوم‌ها مضاعف می‌شوند و بنابراین هر کروموزوم شامل دو کروماتید خواهری مشابه می‌شود. **شکل ۴- ۱۳** به توضیح بخش‌های گوناگونی که ما در توصیف کروموزوم‌های مضاعف‌شده در یک سلول دیپلوئید به‌کار می‌بریم، کمک می‌کند. برای درک تفاوت‌های بین کروموزوم‌های همتا، کروماتیدهای خواهری، کروماتیدهای غیرخواهری، و مجموعه‌های کروموزومی، این شکل را مطالعه کنید.

برخلاف سلول‌های پیکری، گامت‌ها (سلول‌های اسپرم و تخمک) دارای یک مجموعه کروموزوم هستند. هریک از این سلول‌ها، **سلول هاپلوئید**[2] نامیده می‌شوند و هریک تعداد کروموزوم هاپلوئید (n) دارند. برای انسان‌ها، عدد هاپلوئید ۲۳ ($n = 23$) است، که تعداد کروموزوم‌های موجود در هر گامت می‌باشد. مجموعهٔ ۲۳ کروموزومی، شامل ۲۲ اتوزوم به‌اضافهٔ یک کروموزوم جنسی است. یک سلول تخمک (که اووم نیز نامیده می‌شود) دارای یک کروموزوم X است، ولی یک اسپرم ممکن است یک کروموزوم X یا یک کروموزوم Y داشته باشد.

توجه داشته باشید که هرگونه‌ای که تولیدمثل جنسی دارد، یک عدد هاپلوئید و یک عدد دیپلوئید خاص دارد. به عنوان مثال، مگس سرکه، *دروزوفیلا ملانوگاستر*، عدد دیپلوئید ($2n$) ۸ و عدد هاپلوئید (n) ۴ دارد، در حالی‌که سگ‌ها دارای عدد دیپلوئید ۷۸ و عدد هاپلوئید ۳۹ هستند.

حال که مفهوم اعداد دیپلوئید و هاپلوئید کروموزوم‌ها را آموخته‌اید، رفتار کروموزوم‌ها را طی چرخهٔ زندگی جنسی بررسی می‌کنیم. از چرخهٔ زندگی انسان به عنوان یک مثال استفاده می‌کنیم.

1- Diploid cell
2- Haploid cell



شکل ۴- ۱۳ توصیف کروموزوم‌ها. در اینجا یک سلول با عدد کروموزومی دیپلوئید در مرحلهٔ G_2 اینترفاز نشان داده شده است که این مرحله پس از مضاعف شدن کروموزوم‌هاست (کروموزوم‌ها به‌طور مصنوعی متراکم شده‌اند). هریک از ۶ کروموزوم مضاعف‌شده، شامل دو کروماتید خواهری است که در سانترومر به هم متصل هستند. هر جفت کروموزوم همتا، شامل یک کروموزوم از مجموعهٔ کروموزوم مادری (قرمز) و یک کروموزوم از مجموعهٔ پدری (آبی) است. هر مجموعه کروموزوم شامل ۳ کروموزوم است. کروماتیدهای غیرخواهری، کروماتیدهای یک جفت کروموزوم همتا هستند که با یکدیگر خواهر نیستند.

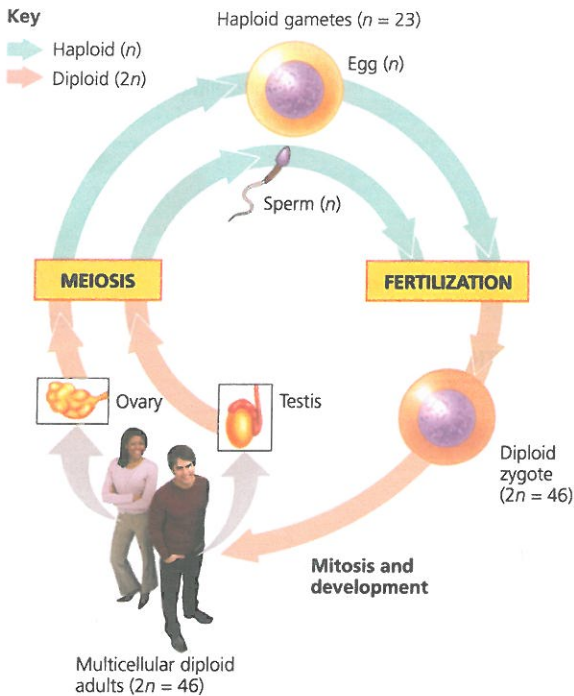
؟ عدد هاپلوئید این سلول چند است؟ آیا یک «مجموعه» از کروموزوم‌ها، هاپلوئید است یا دیپلوئید؟

رفتار مجموعه‌های کروموزومی در چرخهٔ زندگی انسان

چرخهٔ زندگی انسان از زمانی آغاز می‌شود که یک اسپرم هاپلوئید از پدر با یک اووم هاپلوئید از مادر به‌هم می‌پیوندند. این به‌هم پیوستن گامت‌ها که در ملحق شدن هسته‌هایشان به اوج خود می‌رسد، **لقاح**[1] نامیده می‌شود. بنابراین تخم لقاح‌یافته یا **زیگوت**[2]، دیپلوئید است، زیرا دارای دو مجموعهٔ کروموزومی هاپلوئید می‌باشد که ژن‌های موجود در خطوط خانوادگی پدری و مادری را دربر دارند. همان‌طورکه یک انسان از یک زیگوت به یک انسان بالغ از نظر جنسی نمو پیدا می‌کند، میتوز تمام سلول‌های بدن را به‌وجود می‌آورد. هر دو مجموعهٔ کروموزومی موجود در زیگوت و همهٔ ژن‌هایی که این کروموزوم‌ها حمل می‌کنند، به‌طور دقیق به سلول‌های پیکری ما انتقال می‌یابند.

تنها سلول‌هایی از بدن ما که با میتوز تولید نمی‌شوند، گامت‌ها هستند که در گنادها (تخمدان‌ها در زنان و بیضه‌ها در مردان) نمو می‌یابند (**شکل ۵- ۱۳**). تصور کنید اگر گامت‌های انسان با میتوز به‌وجود می‌آمدند چه اتفاقی می‌افتاد. آنها همانند سلول‌های پیکری دیپلوئید می‌شدند. در دور بعدی لقاح، وقتی دو گامت به هم می‌پیوستند، تعداد طبیعی ۴۶ کروموزوم، دوبرابر (۹۲ کروموزوم)

1- Fertilization
2- Zygote

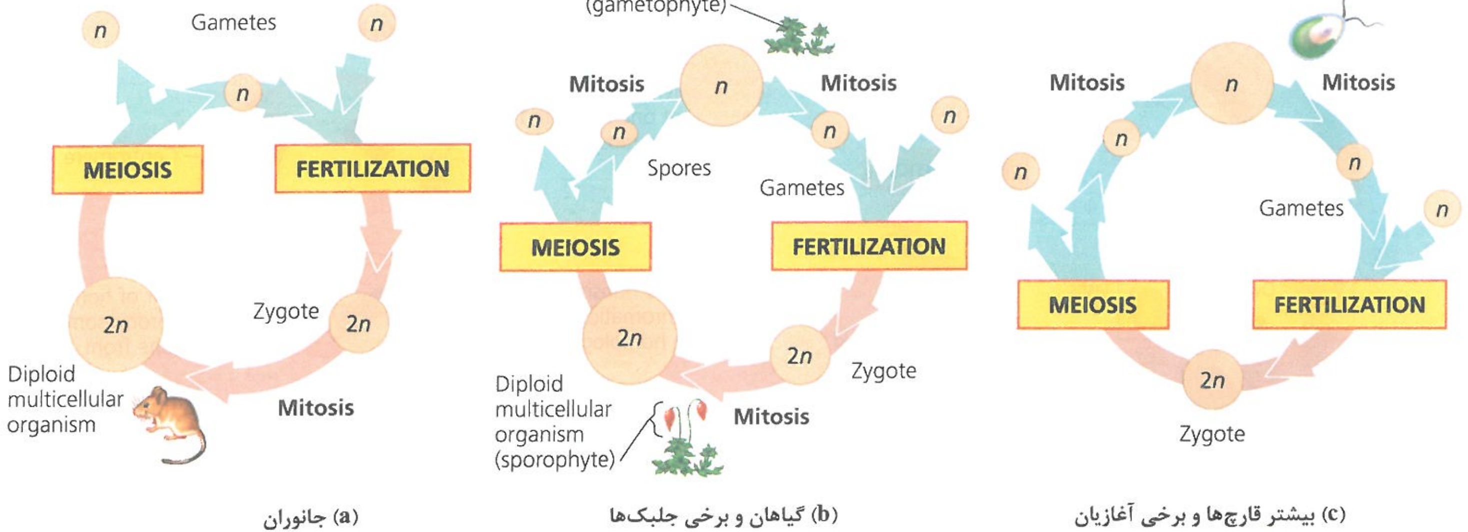


شکل ۵- ۱۳ چرخهٔ زندگی انسان. در هر نسل، دو برابر شدن تعداد مجموعه‌های کروموزومی روی می‌دهد که حاصل لقاح است و به‌وسیلهٔ نصف شدن تعداد مجموعه‌های کروموزومی از طریق میوز، جبران می‌شود. در انسان، تعداد کروموزوم‌ها در یک سلول هاپلوئید ۲۳ است که یک مجموعهٔ کروموزومی می‌باشد ($n = ۲۳$). تعداد کروموزوم‌ها در زیگوت دیپلوئید و تمام سلول‌های پیکری، ۴۶ است که شامل دو مجموعهٔ کروموزومی می‌باشد ($2n = ۴۶$).

در این شکل کدهای رنگی به‌کار رفته که برای سایر چرخه‌های زندگی که بعداً در این کتاب می‌آیند نیز مطرح می‌شود. پیکان‌های سبزرنگ مراحل هاپلوئید چرخهٔ زندگی و پیکان‌های قهوه‌ای روشن مراحل دیپلوئید آن را نشان می‌دهند.

می‌شد و به‌همین ترتیب در هر نسل، تعداد کروموزوم‌ها دوبرابر می‌شد. اما این وضعیت رخ نمی‌دهد، زیرا در جانداران دارای تولیدمثل جنسی، گامت‌ها با نوعی از تقسیم سلولی به نام **میوز** تشکیل می‌شوند. میوز، نوعی تقسیم سلولی است که تعداد مجموعهٔ کروموزوم‌ها در گامت‌ها را از دو به یک کاهش داده و دو برابر شدن کروموزوم‌ها را که در لقاح روی می‌دهد، جبران می‌کند. در جانوران، میوز فقط در تخمدان‌ها یا بیضه‌ها رخ می‌دهد. درنتیجه، تمام اسپرم‌ها و تخمک‌های انسان هاپلوئید هستند ($n = ۲۳$). لقاح از طریق ترکیب دو مجموعهٔ هاپلوئید کروموزوم‌ها، دوباره شرایط دیپلوئید را ایجاد می‌کند و چرخهٔ زندگی انسان نسل به نسل تکرار می‌شود (شکل ۵- ۱۳ را ببینید). در فصل ۴۶ در مورد چگونگی تولید اسپرم و تخمک بیشتر خواهید آموخت.

به‌طورکلی، مراحل چرخهٔ زندگی انسان برای بسیاری از جانداران نیز عمومیت دارد. درواقع، فرایندهای لقاح و میوز ویژگی‌های تولیدمثل جنسی در گیاهان، قارچ‌ها، آغازیان، و نیز جانوران هستند. لقاح و میوز که در چرخهٔ زندگی جنسی به‌طور متناوب تکرار می‌شوند اثرات یکدیگر را روی تعداد کروموزوم‌ها خنثی می‌کنند و بنابراین عدد کروموزومی هرگونه را ثابت نگه می‌دارند.



◀ شکل ۶- ۱۳ **سه نوع چرخهٔ زندگی جنسی.** *جنبه‌های مشترک هر سه نوع چرخه آن است که لقاح و میوز به‌طور متناوب انجام می‌شوند. این دو رویداد کلیدی در گوناگونی ژنتیکی بین زاده‌ها مشارکت دارند. چرخه‌ها در زمان‌بندی این دو رویداد کلیدی با یکدیگر متفاوتند.*

انواع چرخه‌های زندگی جنسی

اگرچه تناوب میوز و لقاح در تمام موجوداتی که تولیدمثل جنسی دارند مشترک است، زمان‌بندی این دو رویداد در چرخهٔ زندگی، بسته به نوع گونه متفاوت است. این تفاوت‌ها می‌توانند در سه گروه اصلی چرخه‌های زندگی تقسیم‌بندی شوند. در چرخهٔ زندگی انسان و بیشتر جانوران، گامت‌ها تنها سلول‌های هاپلوئید هستند. طی تولید گامت‌ها، تقسیم میوز در سلول‌های زایشی که تا قبل از لقاح هیچ تقسیم سلولی را انجام نمی‌دهند، روی می‌دهد. زیگوت دیپلوئید از طریق میتوز تقسیم می‌شود و یک جاندار پرسلولی را که دیپلوئید است به‌وجود می‌آورد (**شکل ۶a- ۱۳**).

گیاهان و بسیاری از گونه‌های جلبک‌ها نوع دیگری از چرخهٔ زندگی به‌نام **تناوب نسل‌ها**[1] را نشان می‌دهند. این نوع چرخهٔ زندگی، هم شامل مرحلهٔ دیپلوئید پرسلولی و هم هاپلوئید پرسلولی است. مرحلهٔ دیپلوئید پرسلولی، **اسپوروفیت**[2] نامیده می‌شود. در اسپوروفیت، با تقسیم میوز سلول‌های هاپلوئیدی به‌نام **اسپور**[3] (هاگ) تولید می‌شوند. برخلاف گامت، هاگ بدون آنکه با سلول دیگری ترکیب شود به یک فرد پرسلولی تبدیل می‌گردد. هاگ با میتوز تقسیم می‌شود و یک موجود پرسلولی به‌نام **گامتوفیت**[4] را تولید می‌کند. گامتوفیتِ هاپلوئید از طریق میتوز، گامت‌ها را به‌وجود می‌آورد. نتیجهٔ لقاح بین گامت‌های هاپلوئید، ایجاد یک زیگوت دیپلوئید است که با نمو آن، نسل بعدیِ اسپوروفیت تشکیل می‌شود. بنابراین در این نوع چرخهٔ زندگی، نسل اسپوروفیت به عنوان زادهٔ خود، یک گامتوفیت را تولید می‌کند و نسل گامتوفیت، نسل اسپوروفیت بعدی را به‌وجود می‌آورد (**شکل ۶b- ۱۳**).

نوع سوم چرخهٔ زندگی در بیشتر قارچ‌ها و بعضی آغازیان شامل برخی جلبک‌ها روی می‌دهد. در این نوع چرخه، پس از اینکه گامت‌ها با هم ترکیب شده و یک زیگوت دیپلوئید را تشکیل دادند، بدون آنکه یک زادهٔ دیپلوئید تشکیل شود، میوز صورت می‌گیرد. میوز، گامت‌ها را تولید نمی‌کند بلکه سلول‌های هاپلوئیدی را به‌وجود می‌آورد که سپس هریک از طریق میتوز تقسیم شده و تبدیل به یک موجود بالغ پرسلولیِ هاپلوئید می‌شوند. پس از آن، موجود زندهٔ هاپلوئید میتوز انجام می‌دهد و سلول‌هایی را تولید می‌کند که به گامت‌ها نمو می‌یابند. تنها مرحلهٔ دیپلوئید در این گونه‌ها، یک سلول زیگوت است (**شکل ۶c- ۱۳**).

توجه داشته باشید که هم سلول هاپلوئید و هم سلول دیپلوئید می‌توانند از طریق میتوز تقسیم شوند که بستگی به نوع چرخهٔ زندگی دارد، ولی فقط سلول‌های دیپلوئید می‌توانند میوز انجام دهند. اگرچه سه نوع چرخهٔ زندگی جنسی در زمان انجام میوز و لقاح با یکدیگر تفاوت دارند، ولی هر سهٔ آنها در یک نتیجهٔ اساسی مشترک هستند: ایجاد گوناگونی ژنتیکی بین زاده‌ها. نگاهی دقیق‌تر به میوز، منابع این گوناگونی و تنوع را پدیدار خواهد کرد.

1- Alternation of generations
2- Sporophyte
3- Spore
4- Gametophyte

پرسش‌های مبحث ۲-۱۳

۱. **ارتباط دهید.** در شکل ۴-۱۳، چه تعداد مولکول DNA (مارپیچ مضاعف) وجود دارد (شکل ۵-۱۲ را ببینید)؟

۲. تناوب میوز و لقاح در چرخه‌های زندگی تولیدمثل جنسی موجودات زنده، چگونه تعداد طبیعی کروموزوم‌های هرگونه را ثابت نگه می‌دارند؟

۳. هر اسپرم نخودفرنگی دارای ۷ کروموزوم می‌باشد، اعداد هاپلوئید و دیپلوئید نخود چند است؟

۴. **چه می‌شد اگر؟** یک جاندار تک‌سلولی یوکاریوتی در شرایط استرس‌زا تولید گامت می‌کند. سپس گامت‌های آن با هم ترکیب شده و زیگوت حاصل میوز کرده و سلول‌های منفرد جدیدی را پدید می‌آورد. این موجود چه‌نوع جانداری است؟

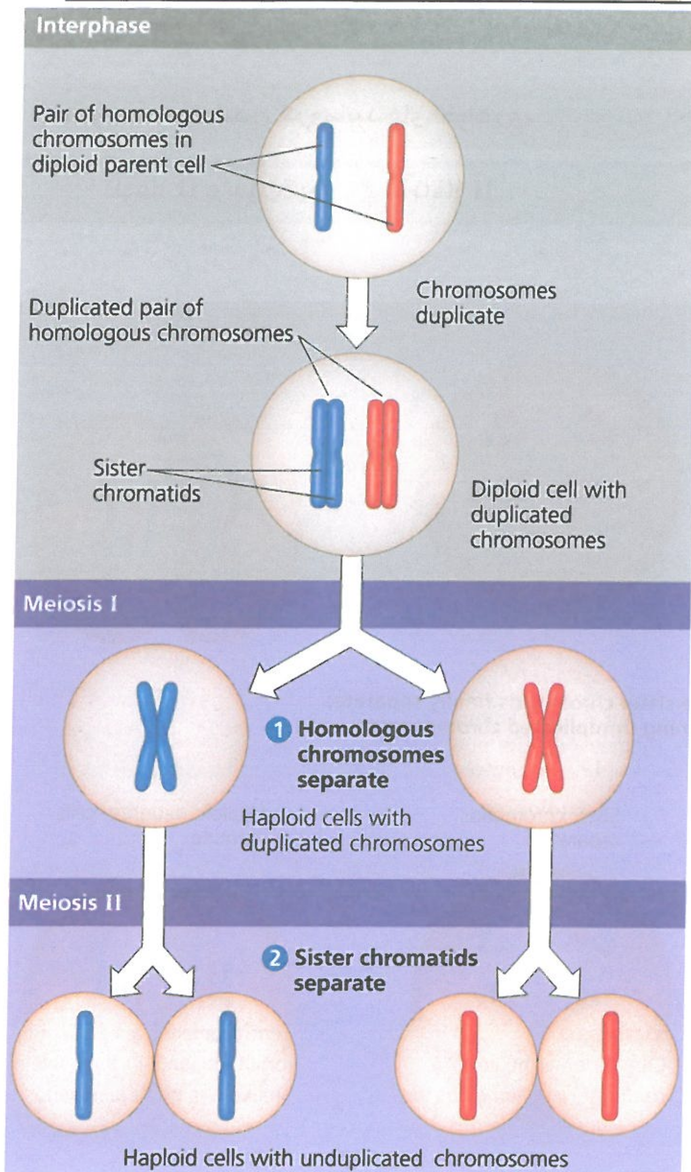
برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۱۳ میوز، تعداد مجموعه‌های کروموزومی را از دیپلوئید به هاپلوئید کاهش می‌دهد

بسیاری از مراحل میوز تقریباً به مراحل میتوز شباهت دارند. قبل از میوز، همانند میتوز، همانندسازی کروموزوم‌ها صورت می‌گیرد. ولی یک‌بار همانندسازی با دو تقسیم سلولی متوالی به‌نام **میوز I** و **میوز II** دنبال می‌شود. حاصل این دو تقسیم، چهار سلول دختر (دو سلول دختر بیشتر از میتوز) است که هریک فقط نصف تعداد کروموزوم‌های سلول والد را دارند.

مراحل میوز

مرور کلی میوز در **شکل ۷- ۱۳** نشان می‌دهد که چگونه اعضای یک جفت کروموزوم همتا در یک سلول دیپلوئید همانندسازی می‌کنند و سپس کپی‌های همانندسازی‌شده در بین چهار سلول دختر هاپلوئید، تقسیم‌بندی می‌شوند. به‌خاطر بیاورید که کروماتیدهای خواهری، دو کپی از یک کروموزوم هستند که در محل سانترومر به یکدیگر چسبیده‌اند و با هم یک کروموزوم مضاعف‌شده را تشکیل می‌دهند (شکل ۴- ۱۳ را ببینید). برخلاف آن، یک جفت کروموزوم همتا، دو کروموزوم مجزا هستند که هر کدام از یکی از والدین گرفته شده‌اند؛ آنها معمولاً به یکدیگر متصل نیستند. کروموزوم‌های همتا زیر میکروسکوپ یکسان هستند اما ممکن است انواع مختلفی از ژن‌ها را در لوکوس‌های مشابه داشته باشند (برای مثال، یک ژن برای داشتن خال‌ها روی یک کروموزوم و یک ژن برای نداشتن خال‌ها در همان لوکوس روی کروموزومِ همتای آن).



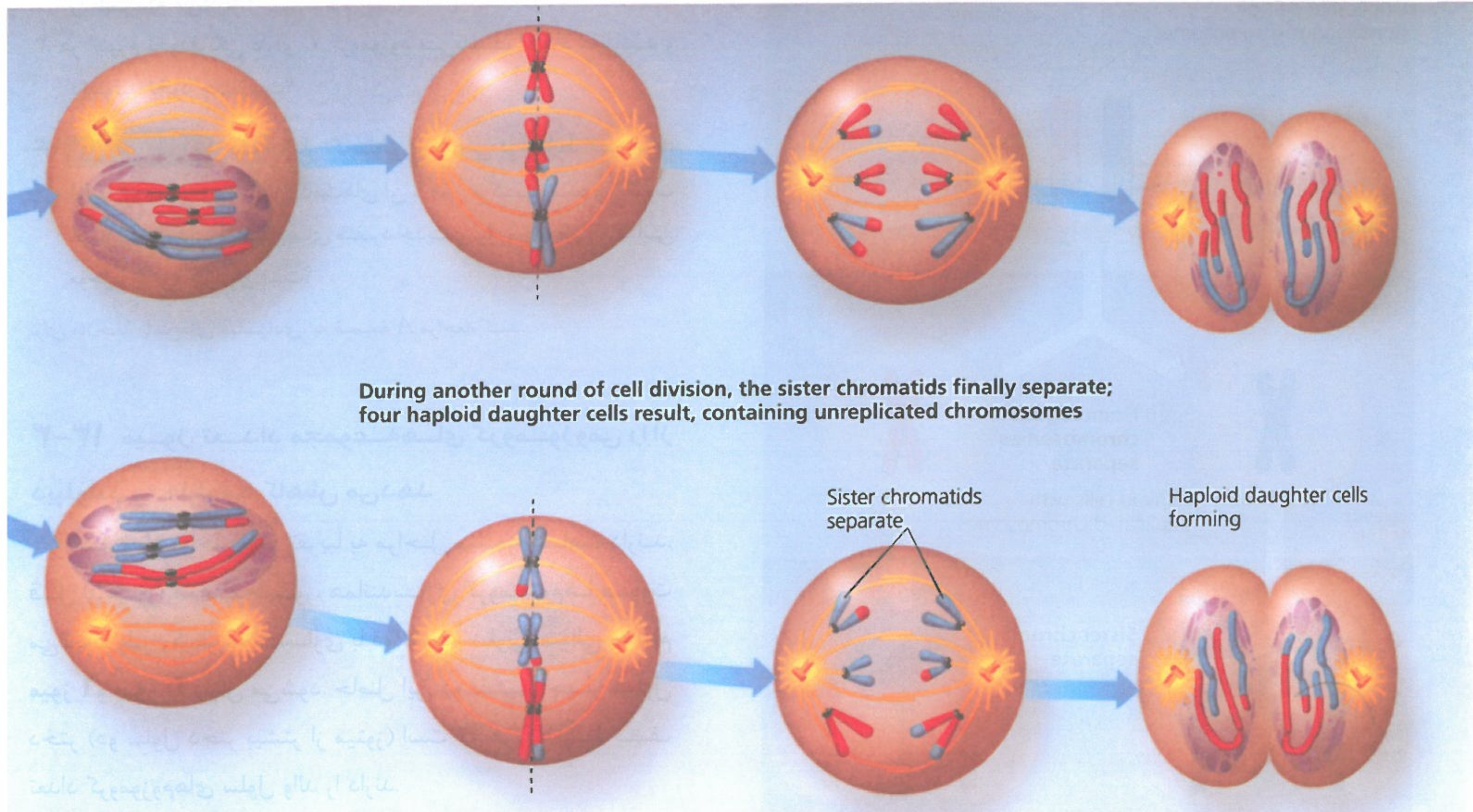
شکل ۷- ۱۳ میوز از نگاه کلی: چگونه میوز تعداد کروموزوم‌ها را کاهش می‌دهد. *پس از مضاعف شدن کروموزوم‌ها در اینترفاز، سلول دیپلوئید دوبار تقسیم شده و ۴ سلول هاپلوئید دختر را ایجاد می‌کند. این تصاویر فقط یک جفت کروموزوم همتا را نشان می‌دهند که برای سادگی شکل، متراکم و فشرده رسم شده‌اند (آن‌ها به‌طور طبیعی در اینترفاز فشرده نیستند). کروموزوم قرمز از والد مادری و کروموزوم آبی از والد پدری گرفته شده‌اند.*

ترسیم کنید. *سلول‌های این شکل را دوباره رسم کرده و برای نشان دادن هر مولکول DNA، از یک مارپیچ مضاعف ساده استفاده کنید.*

شکل ۸- ۱۳ مراحل دو تقسیم میوز را برای یک سلول جانوری دیپلوئید با ۶ کروموزوم به‌طور مفصل شرح می‌دهد. میوز، تعداد کل کروموزوم‌ها را، به یک طریق بسیار خاص، نصف می‌کند و تعداد مجموعهٔ کروموزوم‌ها را از دو به یک کاهش می‌دهد به‌طوری‌که هر سلول دختر یک مجموعه کروموزوم دریافت می‌کند. قبل از شروع بخش بعدی، شکل ۸- ۱۳ را به‌طور کامل مطالعه نمایید.

میوز II: جدا شدن کروماتیدهای خواهری

تلوفاز II و سیتوکینز	آنافاز II	متافاز II	پروفاز II



پروفاز II

- یک دستگاه دوک تشکیل می‌شود.
- در اواخر پروفاز II (در اینجا نشان داده نشده)، کروموزوم‌ها که هنوز هریک شامل دو کروماتید هستند به‌سمت صفحهٔ متافازی II حرکت می‌کنند.

متافاز II

- کروموزوم‌ها همانند تقسیم میتوز، در صفحهٔ متافازی قرار می‌گیرند.
- به‌دلیل کراسینگ اور در میوز I، کروماتیدهای هر کروموزوم از نظر ژنتیکی کاملاً مشابه یکدیگر نیستند.
- کینه‌توکورهای کروماتیدهای خواهری به میکروتوبول‌هایی متصل می‌شوند که از قطب‌های مقابل امتداد یافته‌اند.

آنافاز II

- تجزیهٔ پروتئین‌هایی که کروماتیدهای خواهری را در سانترومر در کنار یکدیگر نگه می‌دارند، موجب جدایی این کروماتیدها می‌شود. کروماتیدهای خواهریِ هر کروموزوم، به‌عنوان دو کروموزوم مجزا به‌سمت قطب‌های مخالف حرکت می‌کنند.

تلوفاز II و سیتوکینز

- هسته‌ها تشکیل می‌شوند، کروموزوم‌ها شروع به باز شدن می‌کنند، و سیتوکینز روی می‌دهد.
- تقسیم میوزیِ یک سلول والدی، چهار سلول دختری به‌وجود می‌آورد. هر سلول دختری دارای یک‌سری کروموزوم هاپلوئید (همانندسازی‌نشده) است.
- چهار سلول دختری از نظر ژنتیکی از یکدیگر و از سلول والدی متمایز هستند.

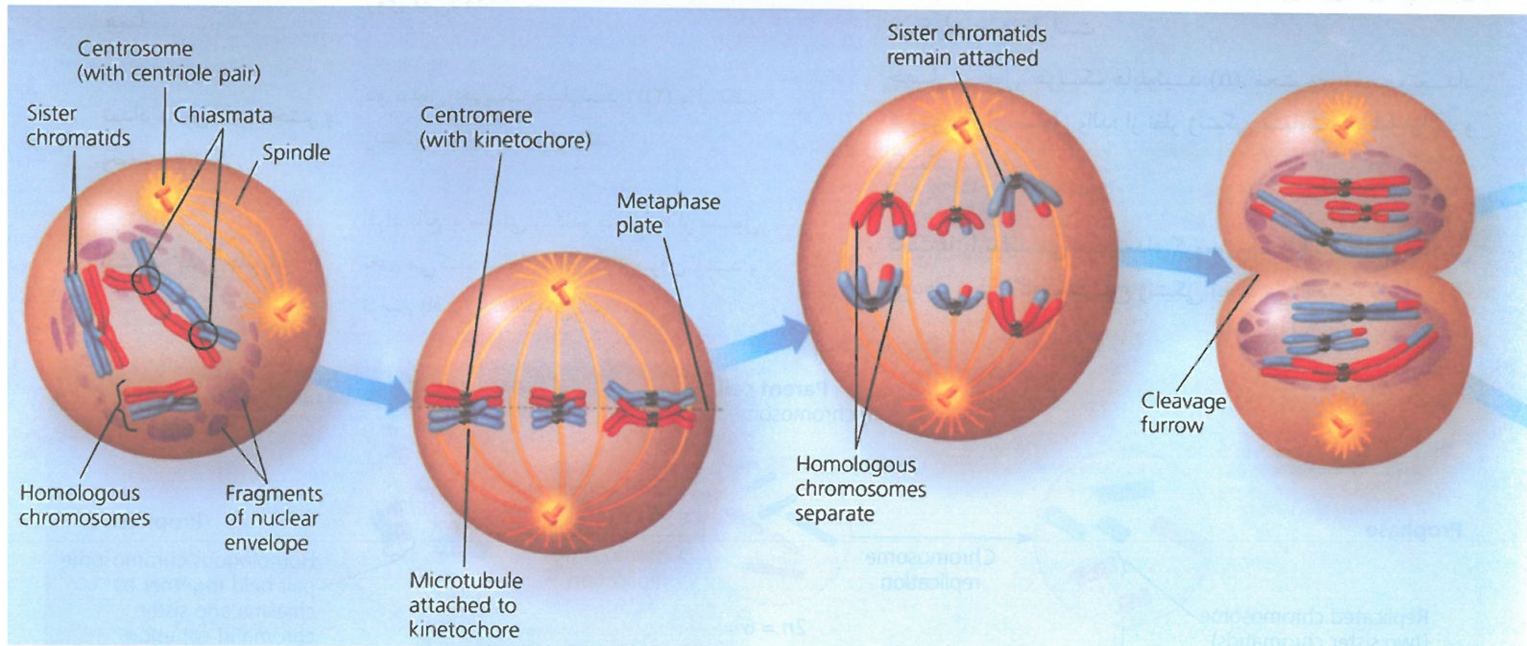
ارتباط دهید. *شکل ۷-۱۲ را ملاحظه کنید و دو سلول دختری را تصور کنید که در حال انجام دور دیگری از میتوز هستند و چهار سلول را به‌وجود می‌آورند. تعداد کروموزوم‌ها در هر یک از آن چهار سلول، پس از میتوز، را با تعداد کروموزوم‌ها در هر سلول در شکل ۸-۱۳، پس از میوز، مقایسه کنید. چه چیزی در فرایند میوز باعث این تفاوت می‌شود، حتی با اینکه میوز نیز شامل دو تقسیم سلولی است؟*

◀ شکل ۸- ۱۳

بررسی تقسیم میوز در یک سلول جانوری

میوز I: جدا شدن کروموزوم‌های همتا

پروفاز I	متافاز I	آنافاز I	تلوفاز I و سیتوکینز



پروفاز I

در اوایل پروفاز I، قبل از مرحله‌ای که در بالا نشان داده شده است:

◀ کروموزوم‌ها شروع به فشرده شدن می‌کنند و کروموزوم‌های همتا، در سراسر طول‌شان و ژن به ژن، به طور سست با هم جفت می‌شوند.

◀ جفت کروموزوم‌های همتا توسط ساختار زیپ‌مانند پروتئینی، به نام کمپلکس سیناپتونمال، به طور فیزیکی از طول به‌یکدیگر وصل می‌شوند؛ این حالت **سیناپس** نامیده می‌شود.

◀ **کراسینگ اور** (بازآرایی ژنتیکی بین کروماتیدهای غیرخواهری که شامل تبادل قطعات مشابه از مولکول‌های DNA است) در طی جفت شدن کروموزوم‌ها و تشکیل کمپلکس سیناپتونمال آغاز می‌شود و زمانی که کروموزوم‌های همتا هنوز سیناپس دارند، کامل می‌شود.

در مرحله‌ای که در بالا نشان داده شده است:

◀ با تجزیهٔ کمپلکس سیناپتونمال در اواسط پروفاز، سیناپس خاتمه می‌یابد و جفت کروموزوم‌ها اندکی از یکدیگر فاصله می‌گیرند.

◀ هر جفت کروموزوم همتا، دارای یک یا چند ناحیهٔ X شکل به نام **کیاسماتا** است (مفرد آن کیاسما است). کیاسما محل وقوع کراسینگ اور است. از آن‌جایی که چسبندگی کروماتیدهای خواهری، دوکروماتید خواهری اولیه را هم‌چنان کنار هم نگه داشته است (حتی در نواحی پس از نقاط کراسینگ اور که یک کروماتید قسمتی از کروموزوم همتای دیگر است)، کیاسما به صورت صلیب دیده می‌شود.

◀ حرکت سانتروزوم‌ها، تشکیل میکروتوبول‌های دوک، تجزیهٔ پوشش هسته‌ای و ناپدید شدن هستک‌ها همانند میتوز رخ می‌دهد.

در اواخر پروفاز I (بعد از مرحله‌ای که در بالا نشان داده شده است):

◀ میکروتوبول‌ها از یک قطب یا از قطب دیگر به دو کینه‌توکور متصل می‌شوند. کینه‌توکورها ساختارهای پروتئینی در سانترومر دو کروموزوم همتا هستند. سپس جفت کروموزوم‌های همتا به سمت صفحهٔ متافازی حرکت می‌کنند.

متافاز I

◀ جفت کروموزوم‌های همتا اکنون به شکل تتراد در صفحهٔ متافازی هستند به‌طوری‌که از هر جفت، یک کروموزوم آن، رو به هر قطب است.

◀ هر دو کروماتید در هر کروموزوم همتا به میکروتوبول‌های کینه‌توکوری که از یک قطب سلول می‌آیند متصل می‌شوند؛ دو کروماتید کروموزوم همتای دیگر، به میکروتوبول‌هایی که از قطب مخالف می‌آیند متصل می‌شوند.

آنافاز I

◀ پروتئین‌های مسئول چسبندگی کروماتیدهای خواهری، در طول بازوهای کروماتیدی تجزیه شده و باعث جدا شدن کروموزوم‌های همتا می‌شوند.

◀ کروموزوم‌های همتا به کمک ساختار دوکی، به سمت قطب‌های مخالف حرکت می‌کنند.

◀ چسبندگی کروماتیدهای خواهری در سانترومر باقی مانده و موجب حرکت کروماتیدهای خواهری به سمت یک قطب می‌شود.

تلوفاز I و سیتوکینز

◀ در شروع تلوفاز I، هر نیمهٔ سلول یک مجموعهٔ هاپلوئید کامل کروموزومی دارد اما هر کروموزوم هنوز از دو کروماتید خواهری تشکیل شده است؛ یک یا هر دو کروماتید دارای نواحی از DNAی کروماتید غیر خواهری هستند.

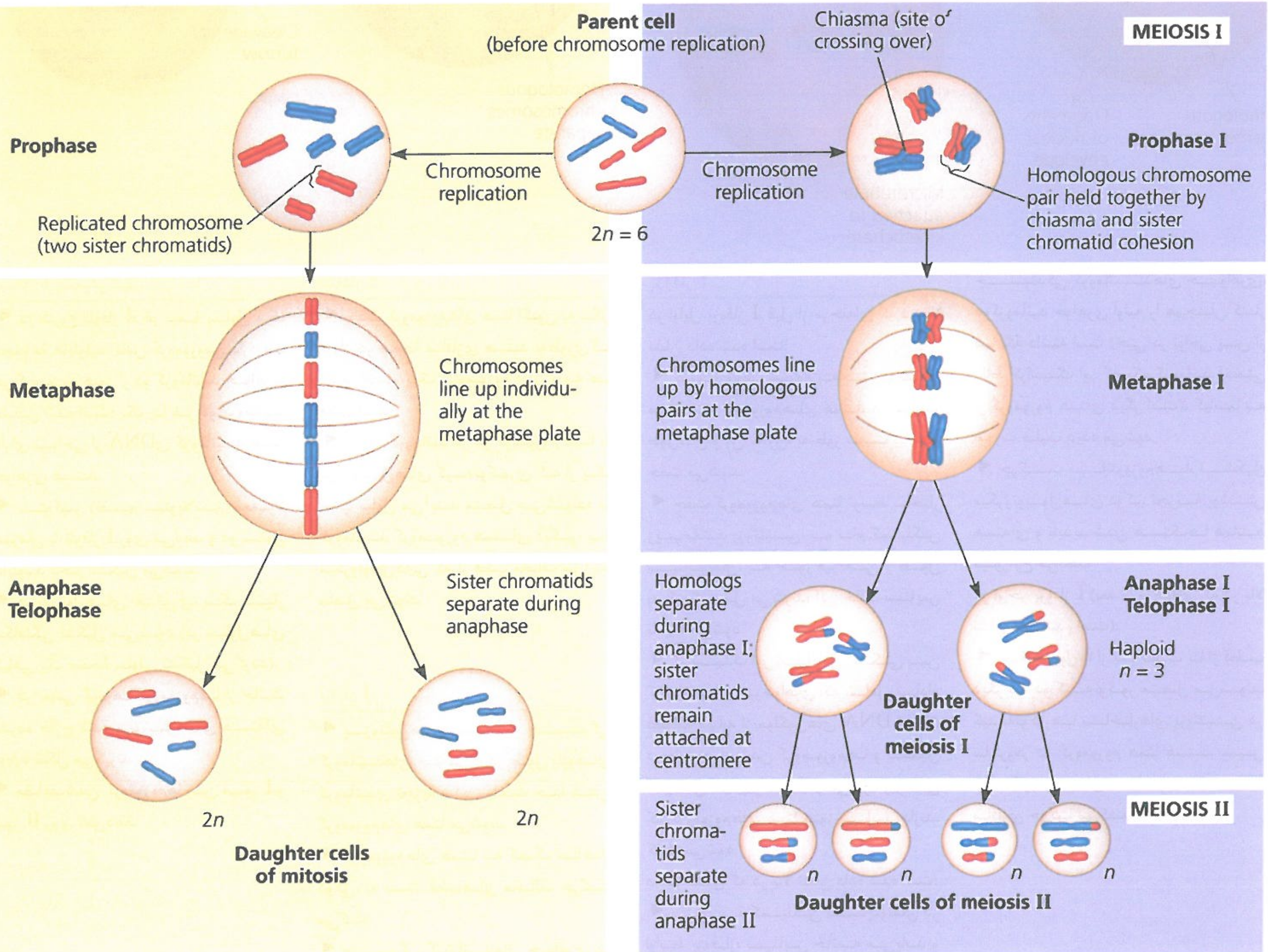
◀ سیتوکینز (تقسیم سیتوپلاسم) معمولاً همزمان با تلوفاز I روی می‌دهد و دو سلول هاپلوئید دختر تشکیل می‌شوند.

◀ در سلول‌های جانوری، یک شیار شکافتگی تشکیل می‌شود (در سلول‌های گیاهی یک صفحهٔ سلولی تشکیل می‌گردد).

◀ در بعضی گونه‌ها، کروموزوم‌ها از حالت فشرده خارج شده و پوشش‌های هسته‌ای دوباره شکل می‌گیرند.

◀ مضاعف‌شدن کروموزوم‌ها بین میوز I و میوز II روی نمی‌دهد.

ویژگی	میتوز	میوز
مضاعف‌شدن DNA	قبل از شروع میتوز در اینترفاز رخ می‌دهد	قبل از شروع میوز I در اینترفاز رخ می‌دهد
تعداد تقسیم	یک بار، شامل پروفاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز	دوبار، هریک شامل پروفاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز
سیناپس بین کروموزوم‌های همتا	روی نمی‌دهد	طی پروفاز I روی می‌دهد، با کراسینگ اور بین کروماتیدهای غیرخواهری همراه است
تعداد سلول‌های دختر و وضعیت ژنتیکی	دو سلول، هریک دیپلوئید (۲n) و از نظر ژنتیکی مشابه با سلول والد	چهار سلول، هریک هاپلوئید (n)، محتوی نصف تعداد کروموزوم‌های سلول والد؛ از نظر ژنتیکی متفاوت با سلول والد و یکدیگر
نقش در بدن جانوران	افراد بالغ پرسلولی را قادر به نمو از سلول تخم می‌کند؛ سلول‌های لازم برای رشد و ترمیم بافت را تولید می‌کند	گامت‌ها را تولید می‌کند؛ تعداد کروموزوم‌ها را به‌نصف کاهش می‌دهد و بین گامت‌ها تنوع ژنتیکی ایجاد می‌کند



◄ **شکل ۹- ۱۳ مقایسهٔ میتوز و میوز در سلول‌های دیپلوئید.**

رسم کنید *آیا در طی میوز II ، از این سلول‌های خاص، که در تلوفاز I نشان داده شده‌اند، ترکیبات کروموزومی دیگری می‌توانند به‌وجود آیند؟ توضیح دهید.*

(راهنمایی: سلول‌ها را در متافاز II ترسیم کنید.)

مقایسهٔ میتوز و میوز

شکل ۹- ۱۳ میتوز و میوز را با یکدیگر مقایسه می‌کند. میوز، تعداد مجموعه‌های کروموزومی را از دو (دیپلوئید) به یک (هاپلوئید) کاهش می‌دهد، درحالی‌که میتوز تعداد مجموعه‌های کروموزومی را ثابت نگه می‌دارد. بنابراین، میتوز سلول‌های دختری را تولید می‌کند که از نظر ژنتیکی شبیه به یکدیگر و شبیه سلول‌های والد هستند، درحالی‌که میوز سلول‌های دختری را به‌وجود می‌آورد که از نظر ژنتیکی با سلول والد خود و با یکدیگر متفاوت هستند.

سه رویداد فقط مختص میوز هستند و هر سه طی میوز I روی می‌دهند:

۱. **سیناپس و کراسینگ اور.** طی پروفاز I، کروموزوم‌های همتایِ مضاعف‌شده، به‌وسیلهٔ ساختار پروتئینی به‌نام *کمپلکس سیناپتونمال*، به‌طور فیزیکی از طول به یکدیگر متصل می‌شوند؛ این فرایند سیناپس[1] نامیده می‌شود. طی پروفاز I، بازآرایی ژنتیکی بین کروماتیدهای غیرخواهری نیز روی می‌دهد که کراسینگ اور[2] نامیده می‌شود. سیناپس و کراسینگ اور معمولاً در میتوز رخ نمی‌دهند.

۲. **تترادها روی صفحهٔ متافازی.** در متافاز I میوز، جفت کروموزوم‌های همتا (تترادها) در صفحهٔ متافازی قرار می‌گیرند، درحالی‌که در میتوز، کروموزوم‌های مضاعف‌شده هریک به‌طور مجزا روی آن قرار می‌گیرند.

۳. **جدا شدن کروموزوم‌های همتا.** در آنافاز I میوز، کروموزوم‌های مضاعف‌شدهٔ هر جفت کروموزوم همتا، به سمت قطب‌های مخالف حرکت می‌کنند، اما کروماتیدهای خواهریِ هر کروموزوم مضاعف‌شده هم‌چنان متصل به‌هم باقی می‌مانند. در میتوز، کروماتیدهای خواهری از هم جدا می‌شوند.

کروماتیدهای خواهری در طول میوز I چگونه با یکدیگر می‌مانند، اما در میوز II و میتوز از یکدیگر جدا می‌شوند؟ کروماتیدهای خواهری توسط کمپلکس‌های پروتئینی به نام *کوهسین‌ها*،[3] در سرتاسر طول‌شان به یکدیگر متصلند. این اتصال تا انتهای متافاز میتوز ادامه دارد؛ در این هنگام، آنزیم‌ها کوهسین‌ها را برش می‌دهند، در نتیجه کروماتیدهای خواهری آزاد شده و به سمت قطب‌های مخالف حرکت می‌کنند. در میوز، چسبندگی کروماتیدهای خواهری در دو گام آزاد می‌شود، یکی در آنافاز I و دیگری در آنافاز II. در متافاز I، کروموزوم‌های همتا توسط چسبندگی بین بازوهای کروماتیدهای خواهری در نواحی پس از نقاط کراسینگ اور، به یکدیگر متصل می‌شوند. در نقاط کراسینگ اور، قطعات کروماتیدهای خواهری، متعلق به کروموزوم‌های متفاوتی هستند. همان‌طور که در شکل ۸-۱۳ نشان داده شده است، کراسینگ اور و چسبندگی بین بازوهای کروماتیدهای خواهری، هر دو موجب تشکیل کیاسما می‌شوند. کیاسماها، کروموزوم‌های همتا را در کنار یکدیگر قرار می‌دهند و دوک اولین تقسیم میوزی تشکیل می‌شود. در آغاز آنافاز I، آزاد شدن کوهسین بین بازوهای کروماتیدهای خواهری موجب جدایی کروموزوم‌های همتا می‌شود. در آنافاز II، آزاد شدن کوهسین بین کروماتیدهای خواهری در محل سانترومر، موجب جدایی کروماتیدهای خواهری می‌شود. بنابراین چسبندگی کروماتیدهای خواهری و کراسینگ اور با یکدیگر عمل کرده و جفت کروموزوم‌های همتا را در متافاز I در کنار هم نگه می‌دارند.

میوز I *تقسیم کاهشی* نامیده می‌شود، زیرا تعداد مجموعه‌های کروموزومی هر سلول را نصف می‌کند - دو سری کروموزوم (حالت دیپلوئید) به یک سری کروموزوم (حالت هاپلوئید) کاهش می‌یابد. در تقسیم دوم میوزی، میوز II (گاهی *تقسیم تعادلی* نامیده می‌شود)، کروماتیدهای خواهری از یکدیگر جدا شده و سلول‌های دختر هاپلوئید را به‌وجود می‌آورند. مکانیسم جداسازی کروماتیدهای خواهری در میوز II و میتوز، در واقع یکسان است. پژوهش‌های بسیاری روی اساس مولکولی رفتار کروموزوم‌ها در طی میوز، متمرکز شده‌اند.

پرسش‌های مبحث ۳-۱۳

۱. **ارتباط دهید.** کروموزوم‌های یک سلول در متافاز میتوز چه شباهت و تفاوتی با کروموزوم‌های یک سلول در متافاز میوز II دارند؟

۲. **چه می‌شد اگر؟** با توجه به اینکه کمپلکس سیناپتونمال در انتهای پروفاز ناپدید می‌شود، اگر کراسینگ اور رخ نمی‌داد، دو کروموزوم همتا چگونه به‌هم متصل می‌شدند؟ احتمالاً این فرایند چه تأثیری بر روی تشکیل گامت می‌گذاشت؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۴-۱۳ تنوع ژنتیکی حاصل از چرخه‌های زندگی جنسی در تکامل نقش دارد

چگونه تنوع ژنتیکی نشان داده شده در شکل ۱- ۱۳ را توجیه کنیم؟ همان‌طورکه در فصل‌های بعد خواهید آموخت، جهش‌ها منابع بنیادی تنوع ژنتیکی هستند. این تغییرات در DNAی یک موجود زنده، انواع گوناگون ژن‌ها به نام *الل‌ها*[4] را به‌وجود می‌آورند. هنگامی‌که این تفاوت‌ها ایجاد شدند، بُر خوردن الل‌ها طی تولیدمثل جنسی، تنوعی را ایجاد می‌کند که نتیجهٔ آن این است که هر فرد از یک گونه، ترکیب اختصاصی از صفات خودش را داشته باشد.

1- Synapsis
2- Crossing over
3- Cohesins

4- Alleles

منشأ گوناگونی ژنتیکی بین زاده‌ها

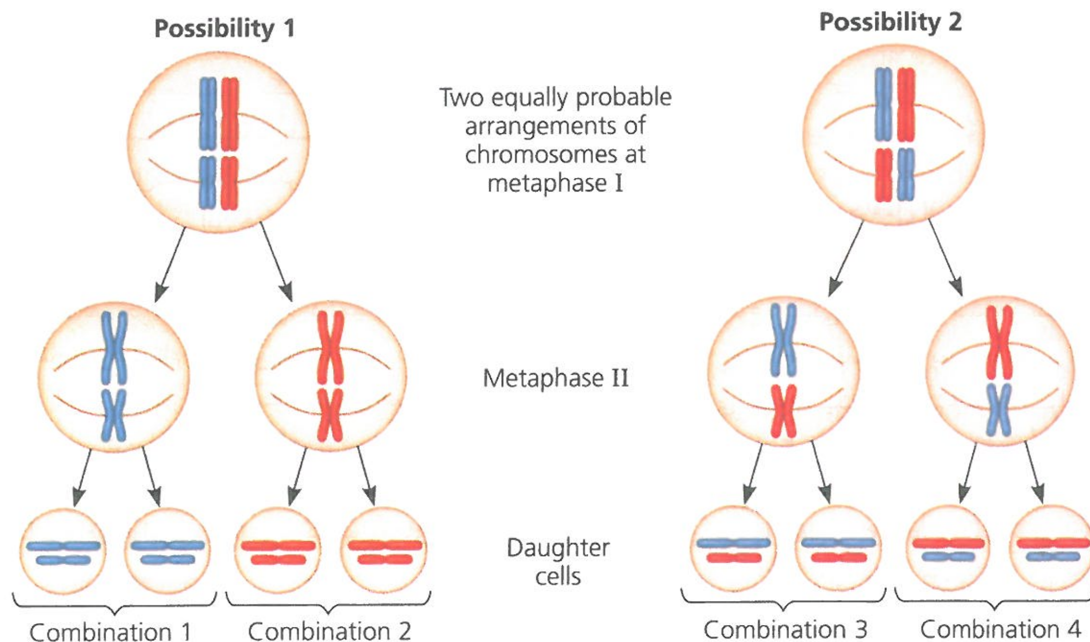
در گونه‌هایی که تولیدمثل جنسی دارند، رفتار کروموزوم‌ها طی میوز و لقاح، علت اصلیِ بیش‌تر تنوعی است که در هر نسل ایجاد می‌شود. اجازه دهید سه مکانیسمی که در تنوع ژنتیکی حاصل از تولیدمثل جنسی نقش دارند را بررسی کنیم: جور شدن مستقل کروموزوم‌ها، کراسینگ اور، و لقاح تصادفی.

جور شدن مستقل کروموزوم‌ها

یک جنبهٔ تولیدمثل جنسی که تنوع ژنتیکی را ایجاد می‌کند، تعیین موقعیت جفت کروموزوم‌های همتا نسبت به سایر کروموزوم‌ها در متافاز میوز I است. در متافاز I، جفت کروموزوم‌های همتا، که هر جفت شامل یک کروموزوم مادری و یک کروموزوم پدری هستند، در صفحهٔ متافازی قرار می‌گیرند (توجه کنید که اصطلاحات مادری و پدری به‌ترتیب به پدر و مادر شخصی اشاره می‌کنند که سلول‌های آن درحال انجام میوز هستند). اعضای هر جفت کروموزوم ممکن است با کروموزوم همتای پدری یا مادری خود، نزدیک‌تر به یک قطب سلول جهت‌گیری کنند - این جهت‌گیری مانند پرتاب یک سکه، کاملاً تصادفی است. بنابراین یک سلول دختری خاص در میوز I، ۵۰٪ شانس دارد که از یک جفت کروموزوم همتای خاص، کروموزوم مادری را بگیرد و ۵۰٪ احتمال دارد که کروموزوم پدری را دریافت کند.

از آنجایی‌که هر جفت کروموزوم همتا در متافاز I به‌طور مستقل از جفت‌های دیگر قرار می‌گیرد، درنتیجه در میوز I، دسته‌بندی هر جفت کروموزوم همتای پدری و مادری به سلول‌های دختر به‌طور مستقل از جفت کروموزوم‌های دیگر صورت می‌گیرد. این فرایند **جورشدن مستقل** نام دارد. هر سلول دختر فقط یک وضعیت از تمام ترکیبات احتمالیِ کروموزوم‌های مادری و پدری را نشان می‌دهد. همان‌طورکه در **شکل ۱۰- ۱۳** نشان داده شده، تعداد ترکیبات ممکن برای سلول‌های دختر حاصل از میوزِ یک سلول دیپلوئید با دو جفت کروموزوم همتا ($n=۲$)، چهار است. توجه داشته باشید که از میوز یک سلول فقط دوتا از چهار ترکیب سلول‌های دختر نشان داده شده در تصویر، حاصل خواهند شد، زیرا یک سلول والد فقط یکی از حالات ممکن انواع جور شدن کروموزوم‌ها در متافاز I را خواهد داشت نه هر دو حالت آن‌را. اما اجتماعی از سلول‌های دختر که حاصل از میوز تعداد زیادی سلول دیپلوئید هستند، شامل هر چهار نوع ترکیب ممکن با نسبت‌های تقریباً مساوی خواهند بود. در مورد $n = ۳$، هشت ترکیب کروموزومی برای سلول‌های دختر، امکان‌پذیر خواهد بود. به‌طور کلی‌تر، تعداد ترکیب‌های ممکن برای جور شدن کروموزوم‌ها به‌طور مستقل طی میوز ۲^{n} خواهد بود که n عدد هاپلوئید جاندار است.

در مورد انسان، عدد هاپلوئید (n) در فرمول ۲۳ است. بنابراین تعداد ترکیب‌های ممکن برای کروموزوم‌های پدری و مادری در گامت‌های حاصل $۲^{۲۳}$ یا حدود ۸/۴ میلیون است. هر گامتی که شما در طول زندگی خود به‌وجود می‌آورید شامل یکی از ۸/۴ میلیون نوع ترکیب ممکن برای کروموزوم‌های گرفته‌شده از پدر یا مادرتان است.



شکل ۱۰- ۱۳ جور شدن مستقل کروموزوم‌های همتا در میوز.

کراسینگ اور

به‌عنوان یک نتیجهٔ جورشدن مستقل کروموزوم‌ها طی میوز، هریک از ما مجموعه‌ای از گامت‌ها را تولید می‌کنیم که ترکیب آنها با ترکیب کروموزوم‌هایی که از هر یک از والدین خود گرفته‌ایم، تفاوت زیادی دارند. شکل ۱۰- ۱۳ نشان می‌دهد که هر کروموزوم خاص در یک گامت از نظر منشأ منحصراً پدری یا مادری است. ولی در حقیقت، این حالت وجود ندارد چون کراسینگ اور، **کروموزوم‌های نوترکیب**[1] ایجاد می‌کند؛ این کروموزوم‌های منحصربه‌فرد ژن‌هایی را دربر دارند که از هر دو والد دریافت شده‌اند **(شکل ۱۱-۱۳)**. در انسان به‌طور متوسط برای هر جفت کروموزوم، بسته به اندازهٔ آنها و موقعیت سانترومر، یک تا سه پدیدهٔ کراسینگ اور، روی می‌دهد.

کراسینگ اور خیلی زود و در پروفاز I، هنگامی‌که جفت کروموزوم‌های همتا آزادانه از طول در امتداد هم قرار می‌گیرند، آغاز می‌شود. هر ژن روی یک کروموزوم همتا دقیقاً با ژن مربوط به خود روی همتای دیگر، در کنار هم ردیف می‌شوند. در یک رویداد کراسینگ اور، مولکول‌های DNAی دو کروماتید غیرخواهری که یکی کروماتید مادری و دیگری کروماتید پدری از یک جفت همتا هستند، شکسته شده و به همان نقطهٔ کروماتید دیگر متصل می‌شوند. درنتیجه، دو قطعه از کروموزوم‌های همتا با یکدیگر جابه‌جا یا متقاطع می‌شوند و کروموزوم‌هایی با ترکیب جدیدی از ژن‌های مادری و پدری ایجاد می‌گردند (شکل ۱۱- ۱۳ را ببینید).

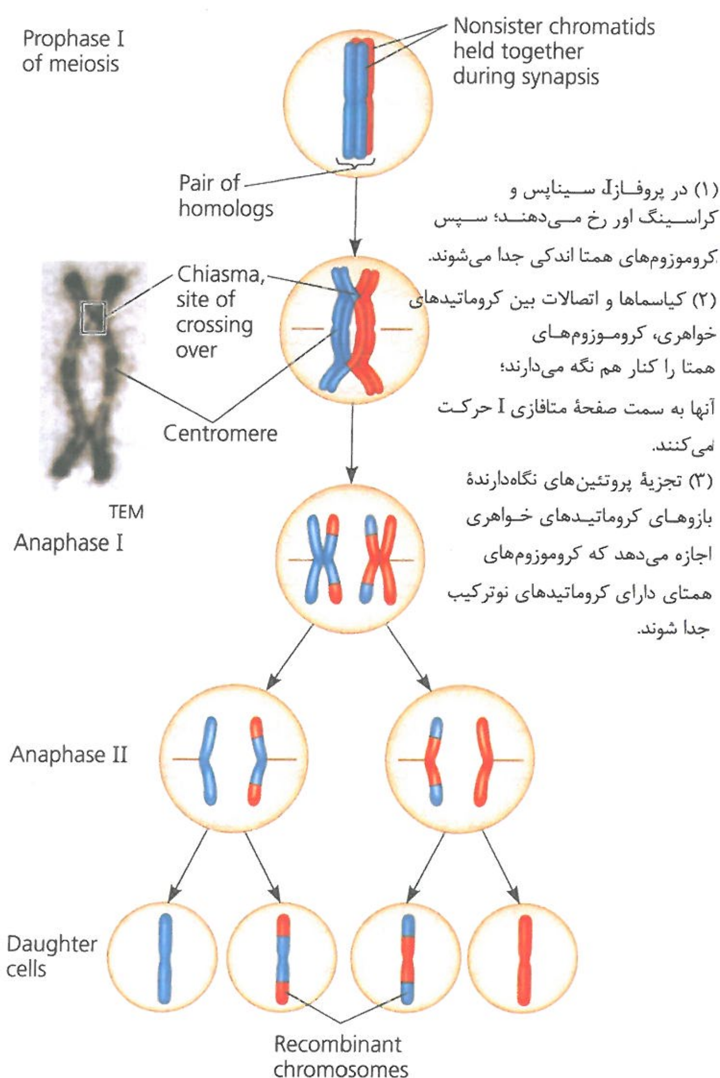
کروموزوم‌هایی که شامل یک یا دو کروماتید نوترکیب هستند، در متافاز II می‌توانند به دو طریق متفاوت نسبت به کروموزوم‌های دیگر جهت‌گیری کنند، زیرا کروماتیدهای خواهری آنها، دیگر مشابه یکدیگر نیستند. جور شدن مستقلِ این کروماتیدهای خواهریِ غیرمشابه در طی میوز II نیز تنوع ژنتیکی سلول‌های دختر حاصل از میوز را افزایش می‌دهد.

شما در فصل ۱۵ در مورد کراسینگ اور بیشتر یاد خواهید گرفت. اکنون نکتهٔ مهم این است که کراسینگ اور با کنار هم قرار دادن DNAی دریافت‌شده از دو والد در یک کروموزوم منفرد، یک منبع مهم تنوع ژنتیکی را در چرخه‌های زندگی جنسی ایجاد می‌کند.

لقاح تصادفی

ماهیت تصادفی بودن لقاح، تنوع ژنتیکی حاصل از میوز را افزایش می‌دهد. برای مثال، در انسان، هر گامت نر یا ماده، یکی از تقریباً ۸/۴ میلیون ترکیب کروموزومی که حاصل از جور شدن

1- Recombinant chromosomes



شکل ۱۱- ۱۳ نتایج کراسینگ اور طی میوز.

مستقل طی میوز است را نشان می‌دهد. به هم پیوستن یک گامت نر با یک گامت ماده طی لقاح، یک زیگوت که دارای یکی از حدود ۷۰ تریلیون (۲۳ میلیون × ۲۳ میلیون) ترکیب دیپلوئید است را به‌وجود خواهد آورد. با اضافه کردن تنوع حاصل از کراسینگ اور، حالات ممکن واقعاً نجومی خواهد شد. بنابراین عجیب نخواهد بود که خواهر و برادرها می‌توانند بسیار متفاوت باشند. شما واقعاً منحصربه‌فرد هستید.

اهمیت تکاملی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها

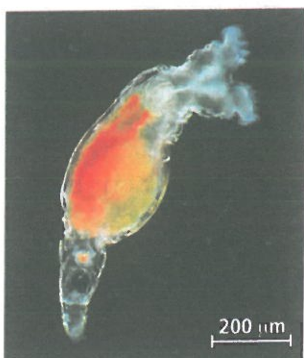
تکامل اکنون که شما یاد گرفته‌اید که در یک جمعیت دارای تولیدمثل جنسی، چگونه بین زاده‌ها ترکیبات جدید ژن‌ها به‌وجود می‌آیند، اجازه دهید ببینیم تنوع ژنتیکی در یک جمعیت چه

ارتباطی با تکامل دارد. داروین تشخیص داد که یک جمعیت از طریق تفاوت در موفقیت تولیدمثلیِ اعضای مختلف آن تکامل می‌یابد. به‌طور متوسط، افرادی که نسبت به محیط خود سازگارترین هستند بیشترین زاده‌ها را به‌وجود می‌آورند، بنابراین ژن‌های خود را به نسل بعد انتقال می‌دهند. نتیجهٔ این انتخاب طبیعی، تجمع‌یافتن انواع ژنتیکی مناسب برای آن محیط است. وقتی محیط تغییر می‌کند، اگر در هر نسل حداقل بعضی از افراد بتوانند به‌طور مؤثری با شرایط جدید خود را وفق دهند، جمعیت ممکن است بقای خود را حفظ کند. جهش‌ها، منبع اصلی الل‌های گوناگون هستند، که سپس در طی میوز با یکدیگر مخلوط می‌شوند. ترکیبات جدید و متفاوت الل‌ها، ممکن است نسبت به ترکیب الل‌های قبلی، کارآیی بهتری داشته باشند. توانایی تولید مثل جنسی در ایجاد تنوع ژنتیکی، یکی از معمول‌ترین توضیحات پیشنهادی است که در مورد ماندگاری تکاملی این فرایند وجود دارد.

از طرف دیگر، در یک محیط ثابت، ظاهراً تولیدمثل غیرجنسی سودمندتر است، زیرا موجب جاودان‌سازی ترکیبات موفق اللی می‌شود. به‌علاوه، تولیدمثل غیرجنسی کم‌خرج‌تر است؛ به دلایلی که در فصل ۴۶ شرح داده خواهند شد، جاندار در تولیدمثل غیر جنسی در مقایسه با تولیدمثل جنسی انرژی کم‌تری مصرف می‌کند.

برخلاف این معایب ظاهری، تا آنجایی که می‌دانیم تولید مثل جنسی تقریباً در بین تمامی جانوران وجود دارد. در حالی که گونه‌های کمی در شرایط غیرمعمول، قادر به تولید مثل غیر جنسی هستند. بهترین مثال این مورد تا به امروز، گروهی از جانوران میکروسکوپی به‌نام دلوئید روتیفرها، bdelloid rotifers (b آن تلفظ نمی‌شود) است که در **شکل ۱۲-۱۳** نشان داده شده است. این گروه شامل حدود ۴۰۰ گونه است که در محیط‌های بسیار متفاوتی در سراسر جهان زندگی می‌کنند. محل زندگی طبیعی آنها، نهرها، اعماق دریاچه‌ها، گودال‌های آب باران، گلسنگ‌ها، پوست درخت، و توده‌های گیاهی در حال فساد است. مطالعات جدید شواهد متقاعد کننده‌ای فراهم کرده‌اند که این جانوران تنها از طریق غیر جنسی تولید مثل می‌کنند و احتمالاً در ۴۰ میلیون سال گذشته، از زمان پیدایش‌شان تا کنون، تولید مثل جنسی نداشته‌اند.

آیا کشف دلوئید روتیفر که به طریق غیر جنسی تولیدمثل می‌کند و از نظر تکاملی موفق است، مزیت تنوع ژنتیکی که نتیجهٔ تولیدمثل جنسی است را مورد تردید قرار می‌دهد؟ برعکس، این گروه احتمالاً استثنایی است که این قانون را اثبات می‌کند. زیست‌شناسان در بررسی دلوئید روتیفر مکانیسم‌هایی را کشف کردند که جدای از تولید مثل جنسی، تنوع ژنتیکی را در این جانداران افزایش می‌دهند. به عنوان مثال، آنها در محیط‌هایی زندگی می‌کنند که ممکن است مدت زمان طولانی خشک شوند، در طول این مدت آنها می‌توانند به حالت تعلیق در آیند. در این حالت، غشاهای سلولی آنها ممکن است در برخی از نقاط شکاف برداشته و موجب ورود DNA از سایر روتیفرها و حتی سایر گونه‌ها به درون آنها شود. شواهد پیشنهاد می‌کند که این DNA می‌تواند داخل ژنوم این روتیفر شده و موجب افزایش تنوع ژنتیکی شود. (در مورد این فرایند، که *انتقال افقی ژن* نامیده می‌شود، در فصل ۲۶ بیشتر خواهید آموخت). در حالت کلی، این مطالعات این نظریه را تأیید می‌کنند که تنوع ژنتیکی از نظر تکاملی مفید است و اینکه مکانیسم‌های مختلفی برای ایجاد تنوع ژنتیکی در دلوئید روتیفرها تکامل یافته‌اند.



◀ شکل ۱۲-۱۳ یک دلوئید روتیفر، جانوری که تنها از طریق غیرجنسی تولیدمثل می‌کند.

در این فصل مشاهده کرده‌ایم که چگونه تولیدمثل جنسی در گوناگونی ژنتیکی موجود در یک جمعیت که نهایتاً از جهش‌ها حاصل می‌شود، نقش دارد. اگرچه داروین بیان کرد که تنوع وراثتی چیزی است که تکامل را ممکن می‌سازد، ولی او نتوانست توضیح دهد که چرا زاده‌ها شبیه والدین خود هستند (کاملاً مشابه آنها نیستند). گریگور مندل که معاصر با داروین بود نظریهٔ وراثت را بنیان‌گذاری کرد و به توضیح گوناگونی ژنتیکی کمک کرد اما کشفیات او تا سال ۱۹۰۰ که بیش از ۱۵ سال پس از مرگ داروین (۱۸۸۲ -۱۸۰۹) و مندل (۱۸۸۴ -۱۸۲۲) بود، روی زیست‌شناسان تأثیر به‌سزایی نگذاشت. در فصل بعدی، شما خواهید آموخت که مندل چگونه قوانین حاکم بر صفات وراثتی خاص را کشف کرد.

پرسش‌های مبحث ۴-۱۳

۱. منشأ اصلی الل‌های مختلف ژن‌ها چیست؟

۲. عدد دیپلوئید مگس سرکه ۸ و زنبور عسل ۳۲ می‌باشد. اگرکراسینگ اور رخ ندهد تنوع در میان زاده‌های مگس سرکه بیشتر خواهد بود یا زنبور عسل؟ توضیح دهید.

۳. **چه می‌شد اگر؟** تحت چه شرایطی کراسینگ اور در طی میوز به ایجاد تنوع در بین سلول‌های دختری کمک نمی‌کند؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

13 مرور فصل

خلاصه مفاهیم کلیدی

۱۳-۱ فرزندان از طریق کروموزوم‌ها ژن‌ها را از والدین دریافت می‌کنند

○ هر **ژن** در DNAی یک موجود زنده، یک **لوکوس** (جایگاه) معین روی یک کروموزوم خاص دارد. ما یک مجموعه کروموزوم را از مادر خود و یک مجموعه کروموزوم را از پدرمان دریافت می‌کنیم.

○ در **تولیدمثل غیرجنسی**، یک والد از طریق میتوز زاده‌هایی را تولید می‌کند که از نظر ژنتیکی مشابه یکدیگرند. **تولیدمثل جنسی**، مجموع ژن‌ها را از دو والد مختلف ترکیب می‌کند و زاده‌های گوناگون از نظر ژنتیکی را به‌وجود می‌آورد.

؟ توضیح دهید چرا فرزندان انسان‌ها به والدین خود شبیه هستند اما همانند آنها نیستند.

۱۳-۲ لقاح و میوز در چرخه‌های زندگی جنسی تناوب دارند

◄ **سلول‌های پیکری** طبیعی انسان ۴۶ کروموزوم دارند که از دو مجموعهٔ ۲۳ کروموزومی تشکیل شده است. هر مجموعهٔ ۲۳ کروموزومی از یکی از والدین گرفته شده است. در سلول‌های دیپلوئید ($2n = 46$)، هر یک از ۲۲ اتوزوم مادری، یک کروموزوم همتای پدری دارد. بیست و سومین جفت، **کروموزوم‌های جنسی**، معین می‌کنند که یک شخص زن (XX) یا مرد (XY) باشد.

◄ در انسان بالغ از نظر جنسی، تخمدان‌ها و بیضه‌ها از طریق **میوز، گامت‌های هاپلوئید** را تولید می‌کنند و هر گامت هاپلوئید شامل یک مجموعهٔ ۲۳ کروموزومی است. طی **لقاح**، یک تخمک و اسپرم به هم می‌پیوندند و یک سلول منفرد دیپلوئید به‌نام **زیگوت** را تشکیل می‌دهند که از طریق میتوز به یک موجود زندهٔ پرسلولی نمو می‌یابد.

◄ چرخه‌های زندگی جنسی در زمان‌بندی میوز نسبت به لقاح و از نظر مرحله یا مراحلی از چرخه، که در آن یک جاندار پرسلولی از طریق میتوز تولید می‌شود، با یکدیگر متفاوتند.

؟ چرخهٔ زندگی جانوران و گیاهان را با یکدیگر مقایسه کرده و شباهت‌ها و تفاوت‌های آنها را ذکر کنید.

۱۳-۳ میوز، تعداد مجموعه‌های کروموزومی را از دیپلوئید به هاپلوئید کاهش می‌دهد

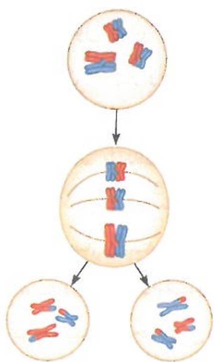
◄ **میوز I** و **میوز II**، چهار سلول دختر هاپلوئید ایجاد می‌کنند. تعداد مجموعهٔ کروموزوم‌ها طی میوز I که تقسیم کاهشی است از دیپلوئید به هاپلوئید کاهش می‌یابد.

◄ میوز به‌وسیلهٔ سه رویدادی که در میوز I اتفاق می‌افتند از میتوز قابل تشخیص است:

پروفاز I: هر جفت کروموزوم همتا **سیناپس** تشکیل داده و **کراسینگ اور** بین کروماتیدهای غیر خواهری اتفاق می‌افتد که متعاقب آن **کیاسماها** تشکیل می‌شوند.

متافاز I: کروموزوم‌ها به صورت جفت کروموزوم‌های همتا در یک ردیف، در صفحهٔ متافازی قرار می‌گیرند.

آنافاز I: کروموزوم‌های همتا از یکدیگر جدا می‌شوند؛ کروماتیدهای خواهری در سانترومر متصل به‌هم باقی می‌مانند.



◄ چسبندگی کروماتیدهای خواهری و کراسینگ اور، با همدیگر کیاسماها را به‌وجود می‌آورند، که تا آنافاز I کروموزوم‌های همتا را در کنار یکدیگر نگه می‌دارند. کوهسین‌های امتداد بازوهای کروماتیدی، در آنافاز I تجزیه شده و باعث جدایی کروموزوم‌های همتا می‌شوند. تجزیهٔ کوهسین‌ها در سانترومرها در آنافاز II، موجب جدایی کروماتیدهای خواهری می‌شود.

؟ در طی پروفاز I، کروموزوم‌های همتا با یکدیگر جفت شده، سیناپس تشکیل می‌دهند و کراسینگ اور صورت می‌گیرد. توضیح دهید چرا این فرایند در طی پروفاز II نیز نمی‌تواند رخ دهد.

۱۳-۴ تنوع ژنتیکی حاصل از چرخه‌های زندگی جنسی در تکامل نقش دارد

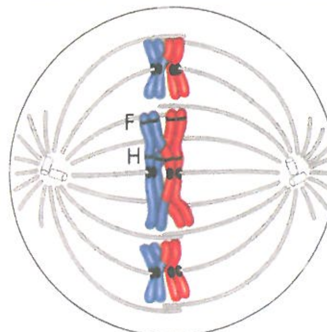
◄ وقایع تولیدمثل جنسی که در تنوع ژنتیکی یک جمعیت مشارکت دارند شامل جور شدن مستقل کروموزوم‌ها طی میوز، کراسینگ اور طی میوز I، و لقاح تصادفی بین اسپرم‌ها و تخمک‌ها هستند. کراسینگ اور شامل برش و اتصال دوبارهٔ DNAی کروماتیدهای غیر خواهری در یک جفت کروموزوم همتا است، که موجب نوترکیبی کروماتیدها و تشکیل **کروموزوم‌های نوترکیب** می‌شود.

◀ تنوع ژنتیکی مادهٔ خام تکامل به‌وسیلهٔ انتخاب طبیعی است. جهش‌ها منابع اصلی این تنوع هستند. تولید ترکیبات جدیدی از ژن‌های گوناگون در تولیدمثل جنسی، گوناگونی ژنتیکی بیشتری را ایجاد می‌کند. جانورانی که تنها از طریق غیر جنسی تولیدمثل می‌کنند، کاملاً نادر بوده و مزیت به‌ظاهر زیاد تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهند.

؟ توضیح دهید چگونه سه فرایند مختص میوز، تنوع ژنتیکی زیادی به‌وجود می‌آورند.

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چند گزینه‌ای ۱ تا ۷ پاسخ دهید.*



۸- ترسیم کنید. طرح سمت چپ، یک سلول را در میوز نشان می‌دهد.

(a) این تصویر را بر روی یک ورق کاغذ جداگانه رونویسی کرده و با رسم خط یا پرانتز این ساختارها را نشان دهید: کروموزوم (به صورت همانندسازی‌شده یا همانندسازی نشده)، سانترومر، کینه‌توکور، کروماتیدهای خواهری، کروماتیدهای غیر خواهری، جفت کروموزوم همتا، کیاسما، چسبندگی کروماتیدهای خواهری.

(b) ترکیب یک مجموعهٔ هاپلوئید و یک مجموعهٔ دیپلویید را توضیح دهید.

(c) مرحله‌ای از میوز که نشان داده شده است را مشخص کنید.

۹- شما چطور می‌توانید بگویید که سلول موجود در سؤال ۸ در حال انجام میوز است نه میتوز؟

۱۰- ارتباط تکاملی

بسیاری از گونه‌ها می‌توانند تولیدمثل جنسی یا غیرجنسی داشته باشند. در مورد اهمیت تکاملیِ زمانی که شرایط نامساعد می‌شود و موجود زنده تولیدمثل خود را از غیرجنسی به جنسی تغییر می‌دهد، توضیح دهید.

۱۱- تحقیق علمی

طرح بالا یک سلول میوزی را در یک فرد خاص نشان می‌دهد. مطالعهٔ قبلی نشان داده است که ژن کک و مک در لوکوس F قرار دارد، و ژن رنگ مو در لوکوس H قرار گرفته است، و هر دو بر روی کروموزوم بلند قرار دارند. فردی که این سلول از او گرفته شده، الل‌های گوناگونی از هر ژن را به ارث برده است («کک و مک» و «موی سیاه» از یک والد و «فقدان کک و مک» و «موی بور» از والد دیگر). ترکیب اللی را در گامت‌های حاصل از این رویداد میوزی پیش‌بینی کنید. (اگر ادامهٔ میوز را رسم کنید و الل‌ها را با نام مشخص کنید به شما کمک خواهد کرد.) سایر ترکیبات احتمالی از این الل‌ها در گامت‌های این فرد را نام ببرید.

۱۲- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات. ادامهٔ حیات به اطلاعات وراثتی موجود در مولکول DNA بستگی دارد. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت) توضیح دهید چگونه رفتار کروموزوم‌ها در طی تولیدمثل جنسی در جانوران، موجب ایجاد صفات والدی در فرزندان، و هم‌زمان با آن موجب تنوع ژنتیکی در بین فرزندان می‌شود.

14

مندل و ایدهٔ ژن



شکل ۱- ۱۴ **گرگور مندل، چه اصولی از وراثت را با آمیزش گیاهان نخودفرنگی کشف کرد؟**

مفاهیم کلیدی

۱۴-۱ مندل با داشتن رویکردی علمی توانست دو قانون وراثت را کشف کند

۱۴-۲ وراثت مندلی تابع قوانین احتمالات است

۱۴-۳ الگوهای وراثتی، اغلب پیچیده‌تر از آن هستند که توسط ژنتیک سادهٔ مندلی قابل پیش‌بینی باشند

۱۴-۴ بسیاری از صفات انسان از الگوهای وراثتی مندل پیروی می‌کنند

نگاه کلی

طرحی از دسته کارت ژن‌ها

اگر شما تصادفاً زنی با موهای بنفش روشن را درحال راه رفتن در خیابان ببینید، احتمالاً نتیجه می‌گیرید که وی رنگ موی عجیبش را از هیچ‌یک از والدینش به ارث نبرده است. چشمانی با رنگ قهوه‌ای، آبی، سبز یا خاکستری؛ موهایی به‌رنگ مشکی، قهوه‌ای، بور یا قرمز، تنها مثال‌هایی در مورد گسترهٔ صفات ارثی می‌باشند که ما در افراد یک جمعیت می‌بینیم. این صفات طبق چه قانونی از والدین به فرزندان منتقل می‌شوند؟

یکی از راه‌های ممکن برای توجیه وراثت، فرضیهٔ «آمیختگی صفات»[1] است که بیان می‌کند صفات به ارث‌رسیده به فرزندان، حد واسطی از صفات والدین هستند، همانند ترکیب رنگ آبی و زرد که حاصل آن سبز می‌شود. بر طبق این فرضیه، پیش‌بینی می‌شود که در یک جمعیت با آمیزش تصادفی، پس از چندین نسل، افراد جمعیت به هم شبیه خواهند شد. اما، مشاهدهٔ روزمرهٔ ما و همچنین آزمایش‌هایی که روی حیوانات و گیاهان انجام شده است، این فرضیه را نقض می‌کند. فرضیهٔ آمیختگی صفات همچنین در مورد صفاتی که در یک نسل مشاهده نمی‌شوند اما در نسل بعدی ظهور پیدا می‌کنند، توجیهی ندارد.

فرضیهٔ ذره‌ای وراثت[2]، یا ایدهٔ ژن، جایگزین مدل آمیختگی صفات شد. این فرضیه بیان می‌کند که والدین واحدهای مجزای قابل توارث **(ژن‌ها)** را به فرزندان خود منتقل می‌کنند. مجموعهٔ ژن‌های یک جاندار، بیشتر شبیه یک دسته ورق بازی است تا سطلی پر از رنگ. ژن‌ها همانند ورق‌های بازی می‌توانند بُر بخورند و از یک نسل به نسل دیگر منتقل شوند.

ژنتیک امروزی و مدرن در حیاط یک کلیسا توسط راهبی به‌نام گرگور مندل[3]، که مکانیسم وراثت ذره‌ای را مستند کرد، تکوین یافت. **شکل ۱-۱۴** مندل (ردیف عقب، یک گل‌آویز در دستش دارد) را با هم‌راهبه‌هایش نشان می‌دهد. مندل نظریهٔ خود را چندین دهه پیش از آنکه رفتار کروموزوم‌ها توسط میکروسکوپ بررسی شود و به اهمیت آنها پی برده شود، بیان کرد. بنابراین در این فصل، ما از بحث کروموزوم‌ها منحرف نمی‌شویم تا بگوئیم که چگونه مندل به نظریهٔ خود رسید؛ و همچنین چگونگی پیش‌بینی برخی از صفات

1- Blending

2- Particulate hypothesis of inheritance

3- Gregor Mendel

مشخص را درمی‌یابیم و می‌فهمیم که الگوهای وراثتی بسیار پیچیده‌تر از آن چیزی هستند که مندل در حیاط خودش مشاهده کرد. در نهایت، ما می‌آموزیم که چگونه می‌توان از قوانین مندلی در گسترهٔ صفات ارثی انسان مثل وراثت گلبول قرمز داسی‌شکل استفاده کرد.

۱-۱۴ مندل با داشتن رویکردی علمی توانست دو قانون وراثت را کشف کند

مندل اصول پایهٔ توارث را به‌وسیلهٔ پرورش گیاه نخودفرنگی، در آزمایش‌هایی که به دقت طراحی شده بودند، کشف کرد. زمانی که آزمایش‌های مندل را دنبال کنیم، شما عناصر کلیدی این فرایند علمی را، که در فصل ۱ معرفی شدند، درک خواهیدکرد.

رویکرد تجربی و کمّیِ مندل

مندل در مزرعهٔ کوچک پدری خود در منطقه‌ای از اتریش که الان قسمتی از جمهوری چک و اسلواکی است بزرگ شد. در مدارس این منطقهٔ زراعی، مندل به‌همراه دوستانش علاوه بر یادگیری دروس پایه به فعالیت‌های کشاورزی نیز می‌پرداخت. کمی بعد مندل توانست بر سختی و فشار اقتصادی خانوادهٔ خود غلبه کند و از دانش‌آموزان ممتاز دبیرستان و مؤسسهٔ فلسفی اُلموتز[1] شود.

در سال ۱۸۴۳، در سن ۲۱ سالگی، مندل به صومعهٔ آگوستینیان[2] رفت. هنگامی‌که مندل نتوانست در آزمون آموزگاری قبول شود، به دانشگاه وین رفت و از سال ۱۸۵۱ تا ۱۸۵۳ در آنجا مشغول به تحصیل شد. این سال‌ها، سال‌های بسیار مهمی برای پیشرفت مندل به‌عنوان یک دانشمند بودند. دو تن از اساتید مندل بسیار تأثیرگذار بودند. یکی از آنها استاد فیزیک مندل، کریستین داپلر[3] بود، که دانش‌آموزان خود را تشویق می‌کرد تا علم را از طریق آزمایش و تجربه بیاموزند و به مندل آموخت تا با استفاده از ریاضیات پدیده‌های طبیعی را توجیه کند. دیگری یک گیاه‌شناس به‌نام فرانز آنگر[4] بود که علاقهٔ مندل را در مورد تنوع گیاهان برانگیخت. این تأثیرات با هم، پایه‌ای برای تجربه‌های بعدی مندل با نخودفرنگی شدند.

پس از ورود به دانشگاه، مندل به‌عنوان معلم مشغول به‌کار شد. در این مدرسه معلمان دیگری بودند که مندل را به تحقیقات علمی تشویق می‌کردند. علاوه بر این، بسیاری از اساتید و محققان دانشگاهی همراه مندل در کلیسا زندگی می‌کردند. و از همه مهم‌تر این بود که راهبان علاقه‌ای دیرین به پرورش گیاهان داشتند. تقریباً در سال ۱۸۵۷ بود که مندل برای تحقیق برروی وراثت شروع به پرورش نخودفرنگی در حیاط کلیسا کرد. این مطلب به‌نوبهٔ خود مسألهٔ خارق‌العاده‌ای به‌نظر نمی‌رسید، مطلبی که مهم بود رویکرد تازهٔ مندل دربارهٔ مسألهٔ قدیمی وراثت بود.

بهترین انتخاب برای مندل، نخودفرنگی بود زیرا آن‌ها بسیار متنوعند. برای مثال، یکی از انواع نخودفرنگی دارای گلبرگ ارغوانی و نوع دیگر دارای گلبرگ سفید است. یک خصیصهٔ ارثی، مانند رنگ گلبرگ، که در میان افراد مختلف یک گونه متنوع است، **صفت**[5] نامیده می‌شود. به انواع مختلف یک صفت، **حالت**[6] می‌گویند، مثل ارغوانی یا سفید بودن گلبرگ گل‌ها.

دیگر مزایای استفاده از نخودفرنگی، فاصلهٔ کوتاه بین زاد و ولدها و تعداد زیاد فرزندان حاصل از هر آمیزش است، به‌علاوه، مندل می‌توانست آمیزش بین گیاهان را به دقت کنترل کند. اندام‌های تولیدمثلی گیاه نخودفرنگی در گل‌های این گیاه هستند و هر گل نخودفرنگی هم دارای اندام‌های تولیدکنندهٔ گرده (پرچم‌ها) و هم دارای یک اندام حاوی تخمک (برچه)* است. در طبیعت، گیاهان نخود فرنگی معمولاً خودلقاح هستند: دانه‌های گرده از پرچم‌ها بر روی برچهٔ همان گل می‌نشینند، و اسپرم‌های آزادشده از این دانه‌های گرده، تخمک‌های موجود در برچه را بارور می‌کنند. مندل برای انجام دگرلقاحی (لقاح بین گیاهان مختلف)، پرچم‌های نابالغ گیاه را قبل از تولید گرده قطع کرد و سپس گردهٔ گیاه دیگری را بر روی گل‌های تغییریافته پاشید (**شکل ۲-۱۴**). سپس هر یک از زیگوت‌های به‌وجودآمده، تکوین یافته و رویان‌های گیاهی (محصور در دانه) را به‌وجود آوردند. بنابراین مندل همواره می‌توانست از اصل و نسب دانه‌های جدید اطمینان حاصل کند.

1- Olmutz Philosophical institute
2- Augustinian
3- Christian Doppler
4- Franz Unger

5- Character
6- Trait

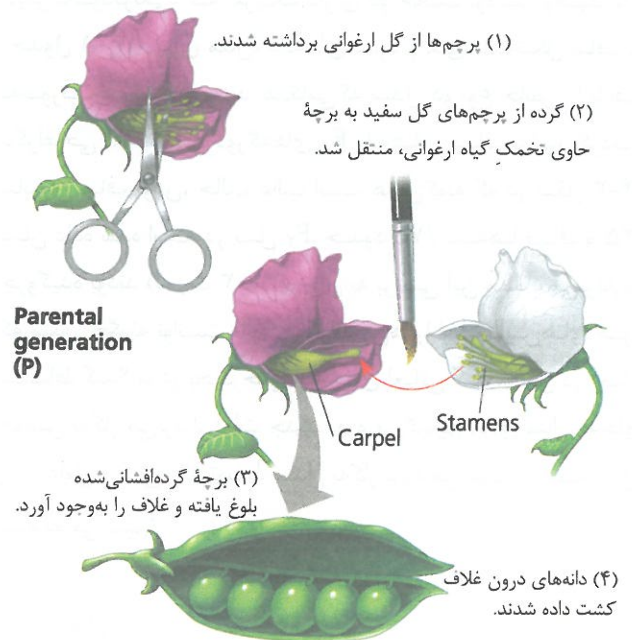
* همان‌طورکه در شکل 13-6b آموختید، میوز در گیاهان هاگ‌ها را تولید می‌کند، نه گامت‌ها را. در گیاهان گل‌دار مانند نخودفرنگی، هر هاگ به صورت یک گامتوفیت میکروسکوپی تکوین می‌یابد که تنها دارای چند سلول است و بر روی گیاه والد قرار می‌گیرد. این گامتوفیت در دانه‌های گرده اسپرم تولید می‌کند و در برچه تخمک‌ها را تولید می‌کند. برای آسان کردن مطلب، ما در مبحث لقاح در گیاهان، مرحلهٔ گامتوفیت را ذکر نخواهیم کرد.

شکل ۲ - ۱۴ — روش تحقیق

آمیزش دادن گیاهان نخودفرنگی

کاربرد: دانشمندان از طریق آمیزش دادن دو سویهٔ خالص از یک جاندار، می‌توانند الگوهای وراثتی را بررسی کنند. مندل نخودهایی را آمیزش داد که از لحاظ رنگ گلبرگ با هم تفاوت داشتند.

تکنیک:



نتایج: هنگامی‌که گرده‌های گل سفید، گیاه ارغوانی را بارور می‌کنند، در نسل اول گل‌های تمام دورگه‌ها به رنگ ارغوانی می‌شوند. نتیجهٔ آمیزش متقابل (انتقال گرده از گیاه ارغوانی به گل سفید) نیز همین خواهد بود.



مندل تنها به بررسی صفاتی پرداخت که به‌صورت «یا این یا آن»[1] بودند و صفات پیوسته که به‌صورت «بیشتر یا کمتر»[2] بودند را کنار گذاشت. برای مثال، گلبرگ‌ها یا دارای رنگ ارغوانی بودند یا سفید و حالت میانگینی بین این دو وجود نداشت. اگر مندل به‌جای این کار به بررسی صفات پیوسته ـ مثل وزن دانه‌ها ـ می‌پرداخت، هرگز موفق به کشف طبیعت ذره‌ای وراثت نمی‌شد (دلیل آن را بعداً متوجه می‌شوید).

مندل همچنین آزمایش‌های خود را به‌وسیلهٔ **سویه‌های خالص**[3] شروع کرد. هنگامی‌که گیاهان خالص خودلقاحی کنند تمام زاده‌های آنها مثل هم خواهند بود. برای مثال، یک گیاه با گلبرگ ارغوانی درصورتی خالص خواهد بود که تمامی دانه‌های حاصل از خودلقاحی آن تبدیل به گل‌هایی با گلبرگ ارغوانی شوند.

در یکی از آزمایش‌ها، مندل دو گیاه خالص را ـ برای مثال گیاهی با گلبرگ ارغوانی را با گیاه گلبرگ سفید، دگرلقاحی داد (شکل ۲- ۱۴ را ببینید)، به این نوع لقاح که بین دو نوع خالص صورت می‌گیرد **دورگه‌گیری**[4] می‌گویند. والدین خالص را به‌عنوان **نسل P** (نسل والدی)[5] درنظر می‌گیریم. زاده‌های دورگهٔ آنها را **نسل F_1** (نسل اول فرزندی، لغت *filial* به‌معنای فرزند است) می‌نامیم. از خودلقاحی نسل F_1، **نسل F_2** حاصل می‌شود (نسل فرزندی دوم). مندل معمولاً صفات موردنظر خود را حداقل تا نسل F_2 دنبال می‌کرد. اگر مندل آزمایش‌های خود را تنها تا نسل F_1 ادامه می‌داد، هیچ‌گاه نمی‌توانست قوانین وراثت را دریابد. تنها بررسی کمّی مندل از نسل F_2 بود که منجر به کشف دو مفهوم پایه‌ای وراثت شد، و اکنون از آنها به‌عنوان قوانین تفکیک ژن‌ها و جور شدن مستقل ژن‌ها یاد می‌شود.

قانون تفکیک ژن‌ها

اگر فرضیهٔ آمیختگی صفات درست بود آنگاه دورگه‌های F_1 که حاصل دگرلقاحی بین گل‌های ارغوانی و سفید بودند می‌بایست به رنگ صورتی کمرنگ، یعنی حالت میانگین والدین خود، می‌بودند. اگر به‌شکل ۲- ۱۴ توجه کنید، درمی‌یابید که نتیجهٔ آزمایش کاملاً مغایر این مطلب است. تمامی فرزندان نسل F_1 دارای گلبرگ‌هایی ارغوانی، مانند والد خود هستند. پس چه اتفاقی برای تأثیر ژنتیکی والدین با گلبرگ سفید برروی فرزندان‌شان افتاده است؟ اگر این اثر از بین رفته باشد، تمامی فرزندان حاصل از نسل F_1 باید ارغوانی باشند. اما هنگامی‌که مندل گیاهان نسل F_1 را به حال خود گذاشت تا خودلقاحی کنند، از رویاندن دانه‌های آنها دید که گلبرک‌های سفید دوباره در نسل F_2 نمایان شدند.

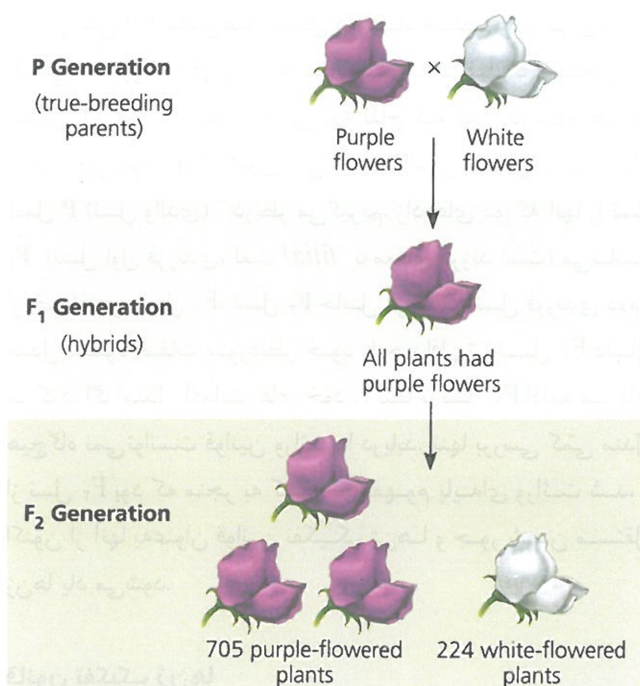
1- “either-or”
2- “more or less”

3- True-breeding
4- Hybridization
5- Parental generation

شکل ۳ - ۱۴ تحقیق

هنگامی‌که دورگه‌های ارغوانی‌رنگ نسل F_1 را به حال خود می‌گذاریم تا خودلقاحی کنند، گلبرگ‌های نسل F_2 به چه رنگی خواهند بود؟

آزمایش: مندل، گیاهان گلبرگ ارغوانی خالص را با گیاهان گلبرگ سفید خالص، آمیزش داد. دورگه‌های F_1 خودلقاحی کردند یا با دیگر دورگه‌های F_1 آمیزش داده شدند. سپس گیاهان نسل F_2، برای رنگ گلبرگ، بررسی شدند.



نتایج: هم گیاهان گلبرگ ارغوانی و هم گیاهان گلبرگ سفید در نسل F_2 با نسبت تقریبی ۳:۱ ظاهر شدند.

نتیجه‌گیری: عامل وراثتی برای حالت مغلوب (گلبرگ‌های سفید) در نسل F_1 تخریب یا حذف نشده بود، بلکه صرفاً توسط حضور عامل گل‌های ارغوانی، که یک حالت غالب است، پوشانده شده بود.

منبع:

G. Mendel, Experiments in plant hybridization, Proceedings of the Natural History Society of Brünn 4:3-47 (1866).

چه می‌شد اگر؟ **اگر شما دو گیاه دارای گل‌های ارغوانی از نسل P را با یکدیگر آمیزش می‌دادید، انتظار داشتید چه نسبتی از صفات را در این فرزندان مشاهده کنید؟ توضیح دهید.**

مندل فضای آزمایشی خیلی بزرگی را انتخاب کرد و در ثبت نتایج حاصل بسیار دقت نمود: ۷۰۵ عدد از گیاهان نسل F_2 دارای گلبرگ ارغوانی بودند و ۲۲۴ عدد از آنها گلبرگ سفید داشتند. این داده‌ها دارای نسبت تقریبی ۳ ارغوانی به ۱ سفید بودند (**شکل ۳ - ۱۴**). مندل این‌گونه استدلال کرد که عامل وراثتی برای سفیدی گلبرگ در نسل F_1 از بین نرفته، بلکه تنها هنگامی که عامل ارغوانی شدن گل حضور داشت، پنهان یا پوشیده می‌شد. در زبان مندلی، به گلبرگ ارغوانی، **حالت غالب**[1] و به گلبرگ سفید، **حالت مغلوب**[2] می‌گویند. ظهور مجدد گیاهانی با گلبرگ سفید در نسل F_2 شاهدی بر آن است که عامل وراثتی گلبرگ سفید در اثر مجاورت با عامل وراثتی گلبرگ ارغوانی در نسل F_1 از بین نرفته است.

مندل سپس مشاهده کرد که الگویی یکسان برای شش صفت دیگر نخودفرنگی، که هریک دارای دو حالت بودند، وجود دارد (**جدول ۱ - ۱۴**). برای مثال، دانه‌های نخود والدی یا به‌شکل صاف یا به‌صورت چروکیده هستند. هنگامی‌که مندل دو نوع خالص را با هم دگرلقاحی داد، تمامی دورگه‌های F_1 دانه‌های صاف تولید کردند. بنابراین صاف بودن، حالت غالب است. همان‌گونه که در شکل ۳-۱۴ نشان داده شده است، در نسل F_2، حدود ۷۵٪ دانه‌ها صاف و ۲۵٪ چروکیده بودند (نسبت ۳ به ۱). حال به بررسی این مطلب می‌پردازیم که مندل چگونه توانست قانون تفکیک ژن‌ها را از آزمایش‌های خود استنباط کند؟ ما در بحث خود به‌جای لغاتی که مندل در زمان خودش به‌کار می‌برد از لغات جدید بهره می‌گیریم (برای مثال، به‌جای واژهٔ «عامل وراثتی» که توسط مندل به‌کار برده می‌شد، از کلمهٔ «ژن» استفاده می‌کنیم).

مدل مندل

مندل براساس شواهد خود که نسبت ۳ به ۱ را در میان زاده‌های نسل F_2 نخودفرنگی‌ها نشان می‌داد، مدلی را مطرح کرد. در این قسمت در مورد چهار مبحث مرتبط که این مدل را می‌سازند صحبت می‌کنیم. مبحث چهارم همان قانون تفکیک ژن‌ها است.

نخست، ***انواع مختلف ژن‌ها باعث ایجاد تنوع در صفات وراثتی می‌شوند.*** برای مثال، ژن مربوط به رنگ گلبرگ‌ها در گیاه نخودفرنگی، دارای دو نوع است، یکی برای گلبرگ ارغوانی و دیگری برای گلبرگ سفید. به انواع مختلف حالات مختلف یک ژن، **الل** می‌گویند (**شکل ۴ - ۱۴**). امروزه می‌توانیم این مفهوم را به کروموزوم‌ها و DNA منسوب کنیم. همان‌طورکه در فصل ۱۳ اشاره کردیم، هر ژن دارای جایگاه (لوکوس) خاصی برروی یک کروموزوم خاص می‌باشد. احتمال تغییر جزئی در توالی نوکلئوتیدهای DNAی یک لوکوس و درنتیجه، تغییر در مفهوم اطلاعات آن وجود دارد. الل گلبرگ ارغوانی و الل گلبرگ سفید، دو نوع توالی DNA هستند که می‌توانند در لوکوس مربوط به رنگ گلبرگ برروی یکی از کروموزوم‌های گیاه نخودفرنگی قرار بگیرند.

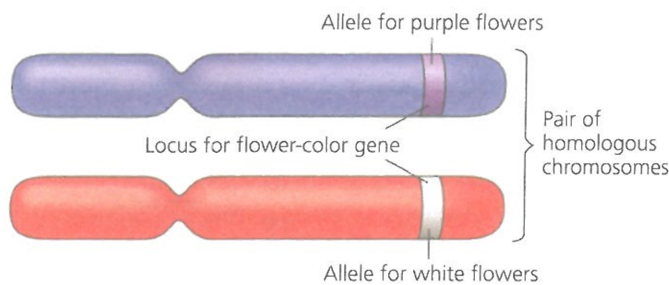
1- Dominant trait
2- Recessive trait

جدول ۱-۱۴ نتایج آمیزش‌های F_1 مندلی برای هفت صفت در گیاهان نخودفرنگی

Table 14.1 The Results of Mendel's F_1 Crosses for Seven Characters in Pea Plants

Character	Dominant Trait	×	Recessive Trait	F_2 Generation Dominant: Recessive	Ratio
Flower color	Purple	×	White	705:224	3.15:1
Flower position	Axial	×	Terminal	651:207	3.14:1
Seed color	Yellow	×	Green	6,022:2,001	3.01:1
Seed shape	Round	×	Wrinkled	5,474:1,850	2.96:1
Pod shape	Inflated	×	Constricted	882:299	2.95:1
Pod color	Green	×	Yellow	428:152	2.82:1
Stem length	Tall	×	Dwarf	787:277	2.84:1

دوم، **جاندار برای هر صفت، دو الل (یک الل از هر والد) به ارث می‌برد.** به‌طور خارق‌العاده‌ای، مندل بدون اطلاع دربارهٔ وجود کروموزوم‌ها توانست این مسأله را کشف کند. از فصل ۱۳ به‌خاطر آورید که هر سلول پیکری (Somatic) در یک جاندار دیپلوئید، دارای دو مجموعهٔ کروموزومی است، که هرکدام از یکی از والدین به ارث می‌رسد. بنابراین، در یک جاندار دیپلوئید، از هر جایگاه ژنی دو تا وجود دارد. ممکن است دو الل در یک جایگاه ژنی مشخص، همسان باشند، مانند گیاهان خالص در نسل P مندل، یا الل‌ها با هم متفاوت باشند، مانند دورگه‌های نسل F_1 (شکل ۴-۱۴ را ببینید).



شکل ۴-۱۴ به انواع مختلف یک ژن، الل می‌گویند. *هر سلول پیکری دارای دو نسخه از هر کروموزوم (جفت کروموزوم همتا) و بنابراین دارای دو الل از هر ژن می‌باشد که ممکن است مشابه یا متفاوت باشند. این شکل، یک جفت کروموزوم همتا را در یک گیاه دورگهٔ نسل F_1 نشان می‌دهد. کروموزوم حاوی الل مربوط به ارغوانی بودن گلبرگ‌ها (آبی) از یک والد و کروموزوم حاوی الل سفید بودن گلبرگ‌ها (قرمز) از والد دیگر به ارث رسیده است.*

سوم، **اگر دو الل موجود در یک لوکوس متفاوت باشند، تنها یکی از آنها یعنی الل غالب برروی ظاهر جاندار اثرگذار است و الل دیگر یعنی الل مغلوب تأثیر قابل توجهی برروی ظاهر جاندار ندارد.** بنابراین گیاهان نسل F_1 در آزمایش مندل ارغوانی بودند زیرا الل رنگ ارغوانی، غالب و الل گلبرگ سفید، مغلوب است.

چهارمین و آخرین قسمت مدل مندل که به‌عنوان **قانون تفکیک ژن‌ها**[1] شناخته می‌شود بیان می‌کند که **دو الل مربوط به یک صفت وراثتی هنگام تشکیل گامت‌ها، از یکدیگر جدا می‌شوند و هرکدام در یک گامت مجزا قرار می‌گیرند.** بنابراین هریک از اسپرم‌ها و یا اووم‌ها (تخمک‌ها)، تنها یکی از دو اللی که در سلول‌های سوماتیکِ (پیکری) سازندهٔ گامت وجود دارند را دریافت می‌کنند. از دیدگاه کروموزومی، این تفکیک متناظر با جدا شدن کروموزوم‌های همتا و توزیع هرکدام در یک گامت مجزا در طی میوز می‌باشد (شکل ۷-۱۳ را ببینید). توجه داشته باشید که اگر جانداری، تنها دارای الل‌های همسان برای یک صفت خاص باشد ـ یعنی خالص باشد ـ در تمام گامت‌های آن فقط همان یک نوع الل مشاهده می‌شود. اما اگر جاندار دارای الل‌های متفاوتی باشد، همانند دورگه‌های نسل F_1، ۵۰٪ گامت‌ها، الل غالب و ۵۰٪ الل مغلوب را دریافت می‌کنند.

آیا مدل تفکیک ژن‌های مندل، نسبت ۳ به ۱ نسل F_2 که حاصل دگرلقاحی دورگه‌ها بودند را می‌تواند توجیه کند؟ در مورد صفت رنگ گلبرگ، این مدل پیش‌بینی می‌کند که هر فرد F_1، دو

1- Law of segregation

آن مـی‌تـوان ترکیـب اللـیِ فرزنـدان حاصل از افرادی که ساختار ژنتیکی آنها مشخص است را پیش‌بینی کـرد. به این نکته توجه داشته باشید که ما برای نـشان دادن الـل‌هـای غالـب از حـروف بـزرگ و بـرای نـشان دادن الل‌هـای مغلـوب از حـروف کوچـک اسـتفاده مـی‌کنـیم. در مثـال مـا، P معرف الل مربوط به گلبرگ ارغوانی و p مربوط به گلبرگ سفید می‌باشد.

رنگ گل‌های زاده‌هـای نـسل F_2 چه خواهد بود؟ یک چهارم فرزنـدان، دو الـل گلبـرگ ارغـوانی را دریافـت کرده‌اند. واضح است که ایـن گیاهـان دارای گـل‌هـایی بـه‌رنـگ ارغـوانی هستند. یک دوم فرزنـدان نـسل F_2، یک الـل گلبـرگ سـفید و یـک الـل گلبرگ ارغوانی را به ارث برده‌اند. این گیاهــان نیـز دارای گـل‌هــای ارغوانی‌رنگ هـستند (حالـت غالـب). درنهایت، یک چهارم گیاهـان F_2، دو الل مربوط به گلبرگ سفید را به ارث بـرده‌انـد و حالـت مغلـوب را نـشان می‌دهند. بنابراین مدل منـدل نـسبت ۳:۱ حالت‌هـایی کـه وی در نـسل F_2 مشاهده کرده بود را توجیه می‌کند.

هریک از گیاهان نژاد خالص از نسل والدی دارای الل‌های یکسان (PP یا pp) هستند.

گـل‌هـای ارغـوانی | ساختار ژنتیکی: PP | گامت‌ها: P | ظاهر: گل‌های سفید | pp | p | نسل F_1

گامت‌ها (دایره‌ها) فقط دارای یـک الـل از ژن رنـگ گـل هستند. در این حالت، هر گامت تولیدشـده توسـط یـک والـد، همان الل را دارد.

لقاح گامت‌های والدی، دورگه‌های F_1 را تولید می‌کند کـه دارای ترکیب Pp هستند. از آنجایی‌که الل گل ارغوانی غالـب است، تمامی این دورگه‌ها دارای گل‌های ارغوانی هستند.

ظاهر: گل‌های ارغوانی | ساختار ژنتیکی: Pp | گامت‌ها: $\frac{1}{2}$ P $\frac{1}{2}$ p

هنگامی که این گیاهان دورگه گامت تولید می‌کننـد، ایـن دو الل از یکدیگر جدا می‌شوند. نیمی از گامت‌ها الل P و نیم دیگر الل p را دریافت می‌کنند.

اسپرم گیاه F_1 (Pp)

این جدول (جدول پانت) تـمامی ترکیبـات ممکـن الـل‌هـا را در فرزندانی نشان می‌دهد کـه از آمیـزش $F_1 \times F_1$ ($Pp \times Pp$) بـه وجود آمده‌اند. هر مربـع یـک فـراوردهٔ احتمـالی لقـاح را نـشان می‌دهد. به عنوان مثال، جعبهٔ پایین سمت چپ، ترکیب ژنتیکی حاصل از لقاح تخمک p و اسپرم P را نشان می‌دهد.

نسل F_2 | تخمک گیاه F_1

ترکیب تصادفی گامت‌ها نسبت ۳:۱ ای را به‌وجود مـی‌آورد که مندل در نسل دوم مشاهده کرد.

شکل ۵- ۱۴ قانون تفکیک ژن‌های مندل. *این شکل، ترکیب ژنتیکی نسل‌هایی که در شکل ۳- ۱۴ نمایش داده شده بود را نشان می‌دهد و مدل مندل را در رابطه با به ارث رسیدن الل‌هـای مربـوط بـه یـک ژن ترسـیم مـی‌کنـد. هـر گیـاه بـرای ژن کنترل‌کنندهٔ رنگ گلبرگ، دارای دو الل است که هرکدام را از یکی از والدین به ارث برده است. بـرای ترسـیم مربـع پانـت، تمـامی گامت‌های احتمالی برای فرد ماده را برروی یکی از اضلاع مربع و گامت‌های مربوط به فرد نر را برروی ضلع مجاور بنویسید. مربع‌های کوچک که در مربع پانت قرار دارند، ساختار ژنتیکی تمامی فرزندان حاصل از ترکیب احتمالیِ گامت‌های نر و ماده را نشان می‌دهند.*

الل مختلف در رابطه با این صفت دارد که در هنگام تشکیل گامت‌ها از هم جدا می‌شوند، به‌صورتی‌کـه نـصف گامـت‌هـا، الـل مربـوط بـه ارغوانی بودن گلبرگ‌ها را دارند و نصف دیگر، حـاوی الـل سـفیدی گلبرگ‌ها می‌باشند. هنگامی‌که گیاهان را به حال خود می‌گذاریم تـا خودلقاحی کنند، هرکدام از این گامت‌ها به‌صورت تـصادفی ترکیـب می‌شوند. احتمال ترکیب گامت مادهٔ حاوی الل گلبـرگ ارغـوانی بـا اسپرم حاوی الل گلبرگ ارغوانی یا با اسپرم حاوی الل گلبرگ سفید با هم برابر است. از آن‌جایی‌که این مطلب در رابطـه بـا گامـت مـادهٔ حاوی الل گلبرگ سفید نیز صدق می‌کند، چهار حالـت برابـر بـرای ترکیب اسـپرم و گامـت مـاده وجـود دارد (**شـکل ۵- ۱۴**). حـالات مختلف توسط **مربع پانت**[1] نشان داده می‌شوند، جدولی که به‌وسیلهٔ

واژه‌های کاربردیِ ژنتیک

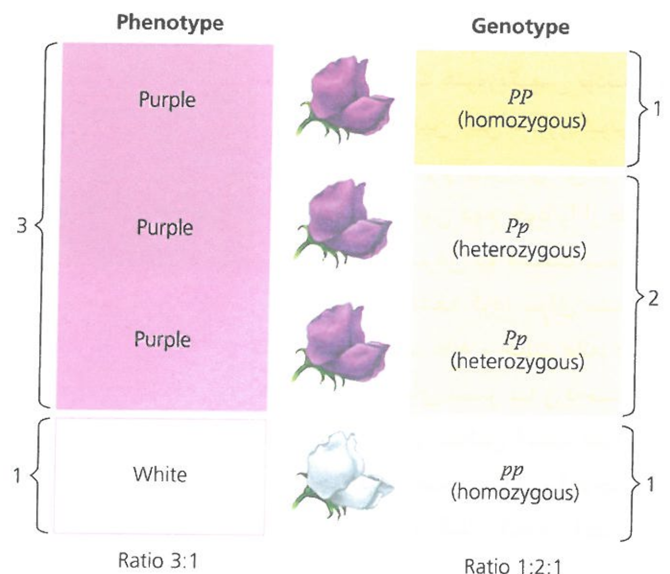
به جانداری که دارای یک جفت الل همـسان بـرای یـک صـفت است، **هوموزیگـوس**[2] (خـالص) بـرای ژن کنتـرل‌کننـدهٔ آن صـفت می‌گوینـد. بـرای مثـال، گیـاه نخـودفرنگی خـالص و دارای گلبـرگ ارغوانی (PP) برای این صفت هوموزیگوس اسـت. نخـودفرنگی‌هـای گلبرگ سفید نیز هوموزیگوس هستند اما برای الل مغلوب (pp). اگر هوموزیگوس‌های غالب را با هوموزیگوس‌های مغلوب آمیزش دهـیم، همانند آمیزش والـدین (نـسل P) کـه در شـکل ۵- ۱۴ نـشان داده شده است، هر فرزند دارای دو الل مختلف می‌شـود ـ در ایـن مثـال،

1- Punnett square

2- Homozygous

در مورد رنگ گلبرگ‌ها در نسل F_1 به‌صورت Pp نشان داده شده است. به جانداری که دارای دو الل مختلف برای یک ژن می‌باشد، **هتروزیگوس**[1] (ناخالص) در مورد آن ژن می‌گویند. برخلاف هوموزیگوس‌ها، هتروزیگوس‌ها خالص نیستند و گامت‌هایی با الل‌های متفاوت تولید می‌کنند ـ برای مثال دورگه‌های نسل F_1، گامت‌هایی حاوی P یا p تولید کردند. درنتیجه، پس از خودلقاحی افراد در نسل F_1، در میان فرزندان آنها، هم گل‌هایی با گلبرگ ارغوانی و هم گل‌هایی با گلبرگ سفید مشاهده می‌شود.

به دلیل اثرات متفاوت الل‌های غالب و مغلوب، صفات یک جاندار همواره ترکیب ژنتیکی آن جاندار را مشخص نمی‌کنند. بنابراین، ما بین ظاهر یک جاندار یا صفات قابل مشاهده (**فنوتیپ**[2] جاندار) و ترکیب ژنتیکی جاندار (**ژنوتیپ**[3] آن)، تمایز قایل می‌شویم. در مورد رنگ گل در گیاهان نخودفرنگی، گیاهان PP و Pp، فنوتیپ یکسان (ارغوانی)، اما ژنوتیپ‌های متفاوتی دارند. **شکل ۶-۱۴** این اصطلاحات را مرور می‌کند. توجه کنید که «فنوتیپ» به صفات فیزیولوژیکی و نیز صفاتی که مستقیماً به ظاهر جاندار مربوط می‌شوند، اشاره می‌کند. برای مثال، سویه‌ای از نخودفرنگی وجود دارد که قادر به خودلقاحی (حالت طبیعی این گیاه) نیست. این گوناگونی فیزیولوژیکی (عدم خودلقاحی)، نوعی صفت فنوتیپی است.



◀ **شکل ۶-۱۴ فنوتیپ در برابر ژنوتیپ.** *دسته‌بندی فرزندان F_2 از لحاظ رنگ گلبرگ، نسبت فنوتیپی ۳:۱ را نشان می‌دهد. از لحاظ ژنوتیپی، درواقع دو گروه گل ارغوانی وجود دارد: PP (هوموزیگوس) و Pp (هتروزیگوس) که نسبت ژنوتیپی ۱:۲:۱ را ایجاد می‌کنند.*

1- Heterozygous
2- Phenotype
3- Genotype

آمیزش آزمون[4]

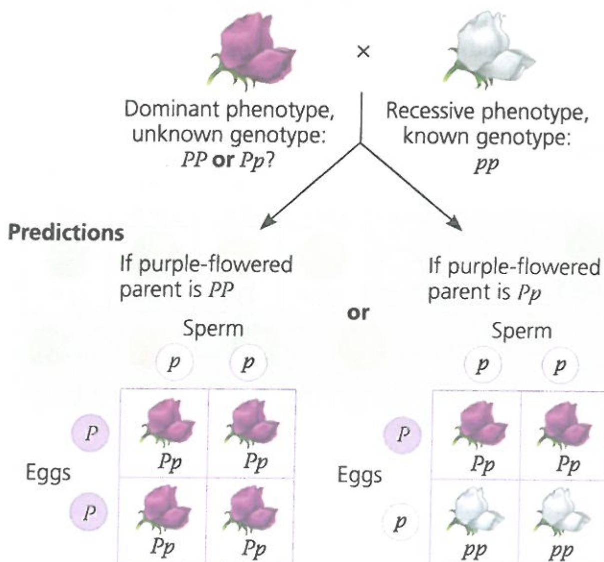
فرض کنید که ما یک گیاه نخودفرنگی ارغوانی‌رنگ داریم. از روی رنگ گلبرگ‌های این گیاه نمی‌توان تعیین کرد که آیا هوموزیگوس است یا هتروزیگوس، زیرا همان‌طورکه می‌دانید فنوتیپ هر دو ژنوتیپ PP و Pp یکسان است. اما اگر این نخودفرنگی را با یک نخودفرنگی گلبرگ‌سفید دگرلقاحی دهیم، آن‌گاه فنوتیپ فرزندان حاصل، ژنوتیپ گیاه ارغوانی ما را آشکار

◀ **شکل ۷-۱۴** روش تحقیق

آمیزش آزمون

کاربرد: جانداری که یک حالت غالب را از خود بروز می‌دهد، همانند گل‌های ارغوانی در نخودفرنگی، می‌تواند هوموزیگوس یا هتروزیگوس باشد. برای تعیین ژنوتیپ جاندار، متخصصان ژنتیک از آمیزش آزمون استفاده می‌کنند.

تکنیک: در آمیزش آزمون، فردی که دارای ژنوتیپ نامعلوم است را با یک فرد هوموزیگوس که حالت مغلوب را نشان می‌دهد (در این مثال، گیاه با گلبرگ سفید) آمیزش می‌دهیم. با بررسی فرزندان حاصل از این آمیزش می‌توان ژنوتیپ والد ارغوانی را مشخص کرد.



نتایج: انطباق نتایج با پیش‌بینی، ژنوتیپ نامعلوم والدی را مشخص می‌کند (PP یا Pp در این مثال). در این آمیزش آزمون، ما گرده‌های گیاه گل‌سفید را به برچه‌های گیاه گل ارغوانی منتقل کردیم؛ آمیزش متقابل، به همان نتایج منجر خواهد شد.

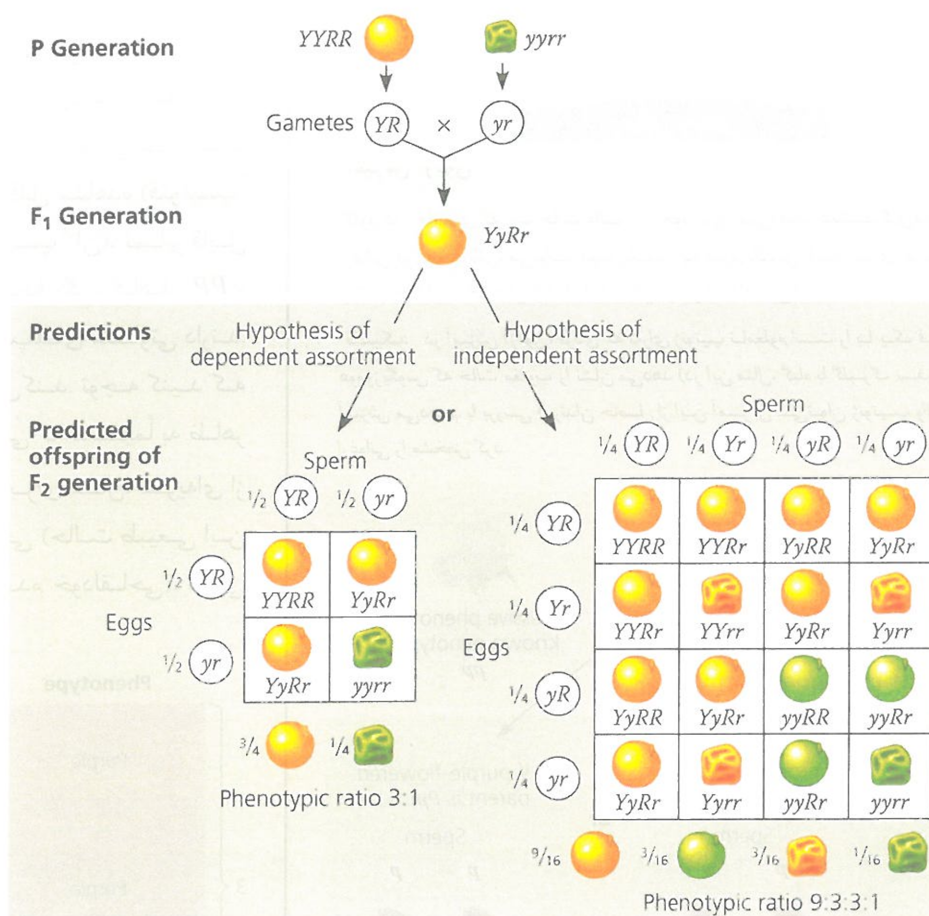


4- Testcross

شکل ۸-۱۴ تحقیق

آیا الل‌های مربوط به یک صفت همراه هم یا مستقل از الل‌های یک صفت متفاوت دیگر، وارد گامت‌ها می‌شوند؟

آزمایش: مندل دو نخودفرنگی خالص را - یکی با دانهٔ زرد و صاف و دیگری با دانهٔ سبز و چروکیده - با هم دگرلقاحی داد که دی‌هیبریدهای F_1 را تولید کردند. از خودلقاحی دی‌هیبریدهای F_1، نسل F_2 حاصل شد. دو فرضیه (جور شدن مستقل و غیر مستقل)، نسبت‌های فنوتیپی مختلفی را پیش‌بینی می‌کنند.



نتایج:

نتیجه‌گیری: فقط فرضیهٔ جور شدن مستقل، ظهور دو تا از فنوتیپ‌های مشاهده‌شده (دانه‌های سبز - صاف و دانه‌های زرد - چروکیده) را پیش‌بینی می‌کند (سمت راست مربع پانت را ببینید). الل‌های رنگ دانه و شکل دانه به‌صورت مستقل از یکدیگر، وارد گامت‌ها می‌شوند.

چه می‌شد اگر؟ فرض کنید مندل گردهٔ گیاه F_1 را به برچهٔ گیاهی منتقل کرده بود که برای هر دو ژن هوموزیگوس مغلوب بود. این آزمایش را طراحی نموده و جدول‌های پانتی را رسم کنید که فرزندان حاصل از هر دو فرضیه را پیش‌بینی نماید. آیا این آمیزش فرضیهٔ جور شدن مستقل را تأیید می‌کند؟

می‌سازد (**شکل ۷-۱۴**). از آن‌جایی‌که گلبرگ سفید حالت مغلوب است، بنابراین والد سفید قطعاً هوموزیگوس می‌باشد (pp). حال اگر تمامی فرزندان حاصل از این دگرلقاحی ارغوانی بودند آنگاه مشخص می‌شود که والد برای حالت غالب، هوموزیگوس است. زیرا حاصل آمیزش $PP \times pp$، ژنوتیپ Pp در میان تمامی فرزندان است. اما اگر هر دو فنوتیپ ارغوانی و سفید در میان فرزندان مشاهده شود، والد ارغوانی هتروزیگوس است. فرزندان حاصل از آمیزش $Pp \times pp$ دارای نسبت فنوتیپی ۱:۱ می‌باشند. آمیزش بین جانداری با ژنوتیپ نامشخص و جاندار هوموزیگوت مغلوب، **آمیزش آزمون** نام دارد، زیرا می‌تواند ژنوتیپ آن جاندار را مشخص کند. این مسأله توسط مندل کشف شد و هنوز به‌عنوان ابزار مهمی در ژنتیک کاربرد دارد.

قانون جور شدن مستقل ژن‌ها

مندل قانون تفکیک ژن‌ها را از طریق آزمایش‌هایی که در آنها تنها یک صفت، مثل رنگ گل، دنبال می‌شد، کشف کرد. تمامی فرزندان F_1 که از طریق دگرلقاحی افراد خالص حاصل شده بودند **مونوهیبرید**[1] بودند، یعنی تنها برای یک صفت هتروزیگوس بودند. به آمیزش بین این هتروزیگوس‌ها، **آمیزش مونوهیبریدی** می‌گویند.

مندل قانون دوم خود را از طریق دنبال کردن دو صفت به‌طور همزمان کشف کرد، برای مثال دو صفت رنگ دانه و حالت دانه. دانه‌ها به رنگ‌های سبز یا زرد مشاهده می‌شوند و ممکن است صاف یا چروکیده باشند. مندل با توجه به آزمایش‌های قبلی که در آنها یک صفت را دنبال می‌کرد، دریافته بود که الل مربوط به دانهٔ زرد، غالب (Y) و الل مربوط به سبزی دانه، مغلوب است (y). در مورد شکل دانه نیز می‌دانست که الل مربوط به صافی دانه، غالب (R) و الل مربوط به چروکیدگی دانه، مغلوب است (r).

1- Monohybrid

تصور کنید که دو گیاه خالص را که در مورد این دو صفت باهم متفاوت هستند آمیزش دهیم - آمیزش بین گیاه دارای دانهٔ زرد و صاف ($YYRR$) و گیاه دارای دانهٔ سبز و چروکیده ($yyrr$). گیاهان نسل F_1 **دی‌هیبرید**[1] خواهند بود یعنی برای هر دو صفت، هتروزیگوس هستند ($YyRr$). اما آیا این دو صفت، رنگ و حالت دانه، به‌صورت یک مجموعه به فرزندان به ارث رسیده‌اند؟ یعنی، آیا الل‌های Y و R در نسل‌های متوالی همواره باهم می‌مانند؟ یا این‌که رنگ و حالت دانه به‌صورت مستقل به ارث می‌رسند؟ **شکل ۸- ۱۴** نشان می‌دهد که چگونه **آمیزش دی‌هیبریدی**[2] (آمیزش بین دی‌هیبریدهای F_1) تعیین می‌کند که کدام‌یک از این دو فرضیه صحیح است.

بدون توجه به‌اینکه کدام‌یک از این فرضیه‌ها صحیح باشد، گیاهان نسل F_1 که دارای ژنوتیپ $YyRr$ هستند، هر دو فنوتیپ را به‌صورت غالب بروز می‌دهند، یعنی دانه‌های زرد و صاف. مرحلهٔ کلیدی در این آزمایش این است که ببینیم هنگامی‌که گیاهان F_1 خودلقاحی می‌کنند و نسل F_2 را تولید می‌نمایند چه اتفاقی می‌افتد. اگر دورگه‌های نسل F_1، تنها بتوانند الل‌های خود را به‌صورتی‌که از والدین خود دریافت کرده‌اند منتقل کنند، در این صورت تنها دو گروه گامت وجود خواهد داشت: YR و yr. این فرضیه پیش‌بینی می‌کند که نسبت فنوتیپی در نسل F_2 همانند آمیزش مونوهیبریدی ۳:۱ خواهد بود (شکل ۸- ۱۴، سمت چپ را ببینید).

فرضیهٔ دیگر بیان می‌کند که هریک از الل‌ها مستقل از دیگری تفکیک می‌شوند. به بیان دیگر، ژن‌ها به‌صورت همهٔ ترکیب‌های اللی ممکن، وارد گامت‌ها می‌شوند. چون هر گامت دارای یک الل برای هر ژن است، در مثال ما، ۴ نوع گامت مختلف به تعداد برابر در نسل F_1 تولید می‌شوند: YR، Yr، yR و yr. اگر اسپرمی از این ۴ نوع با تخمکی از این چهار نوع با هم ترکیب شوند، آن‌گاه ۱۶ (۴×۴) حالت ترکیب اللی، در نسل F_2 وجود خواهد داشت. این حالات ترکیبی، ۴ فنوتیپ مختلف ایجاد می‌کنند که دارای نسبت ۹:۳:۳:۱ هستند (۹ زرد و صاف، ۳ سبز و صاف، ۳ زرد و چروکیده، و یک سبز و چروکیده). هنگامی‌که مندل این آزمایش را انجام داد و زاده‌های نسل F_2 را گروه‌بندی کرد، نتایج به‌دست آمده نزدیک به نسبت فنوتیپی ۹:۳:۳:۱ بود و از فرضیهٔ به ارث رسیدن مستقل صفات (رنگ و حالت دانه) پشتیبانی می‌کرد.

مندل هفت صفت نخودفرنگی را در ترکیبات مختلف دی‌هیبریدی آزمایش کرد و همواره نسبت فنوتیپی ۹:۳:۳:۱ را در نسل F_2 مشاهده نمود. (به‌شکل ۸- ۱۴ توجه کنید). اما اگر شما دو صفت را به‌صورت مجزا درنظر بگیرید، نسبت فنوتیپی ۳:۱ برای هرکدام برقرار است: سه زرد به یک سبز، و سه صاف به یک چروکیده. تا زمانی‌که یک صفت مدنظر است الل‌ها به‌صورت آمیزش مونوهیبریدی از هم تفکیک می‌شوند. نتایج حاصل از آزمایش‌های دی‌هیبریدی مندل، پایهٔ **قانون جور شدن مستقل ژن‌هاست**[3]، که بیان می‌کند **در حین تشکیل گامت، هر جفت الل به‌صورت مستقل از جفت الل‌های دیگر تفکیک می‌شود.**

این قانون تنها در مورد ژن‌هایی (جفت الل‌هایی) صدق می‌کند که برروی دو کروموزوم متفاوت قرار داشته باشند - یعنی کروموزوم‌هایی که با هم همتا نیستند. ژن‌هایی که نزدیک یکدیگر برروی یک کروموزوم قرار دارند، تمایل دارند که با هم به ارث برسند و الگوی وراثتی آنها پیچیده‌تر از آن است که بتوان با قانون جور شدن مستقل ژن‌ها پیش‌بینی کرد. در فصل ۱۵ به توضیح این الگوی وراثتی می‌پردازیم. تمامی صفاتی که در نخودفرنگی به‌وسیلهٔ مندل بررسی شدند توسط ژن‌هایی که برروی دو کروموزوم متفاوت قرار داشتند کنترل می‌شدند (و یا به‌گونه‌ای رفتار می‌کردند که این‌طور به‌نظر می‌رسید). این مسأله بخت بلند مندل بود که تفسیر آمیزش‌های چندصفتی نخودها را برای وی بسیار ساده کرد. تمامی مثال‌هایی که ما در ادامهٔ این فصل می‌آوریم مربوط به ژن‌هایی می‌شود که روی دو کروموزوم متفاوت قرار گرفته‌اند.

پرسش‌های مبحث ۱-۱۴

۱. **ترسیم کنید:** گیاهان نخودی که در مورد وضعیت گل و طول ساقه هتروزیگوس هستند ($AaTt$) خودلقاحی کردند و ۴۰۰ عدد از دانه‌های حاصل را پرورش دادیم. پیش‌بینی می‌کنید که چه تعدادی از زاده‌ها دارای ساقهٔ کوتاه با گل انتهایی باشند (جدول ۱- ۱۴ را ببینید).

۲. **چه می‌شد اگر؟** لیست گامت‌های مختلفی که می‌توانند توسط یک گیاه هتروزیگوس برای رنگ دانه، شکل دانه، و شکل غلاف ($YyRrIi$، جدول ۱- ۱۴ را ببینید) تولید شوند را بنویسید. مربع پانت مورد نیاز برای پیش‌بینی نسل حاصل از خودلقاحی این تری‌هیبرید چقدر باید بزرگ باشد؟

۳. **ارتباط دهید.** در برخی از آمیزش‌های گیاه نخود فرنگی، گیاهان خودلقاحی می‌کنند. به بخش ۱-۱۳ رجوع کنید و توضیح دهید که آیا خودلقاحی تولیدمثل غیرجنسی محسوب می‌شود یا تولید مثل جنسی؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Dihybrid
2- Dihybrid cross
3- The law of independent assortment

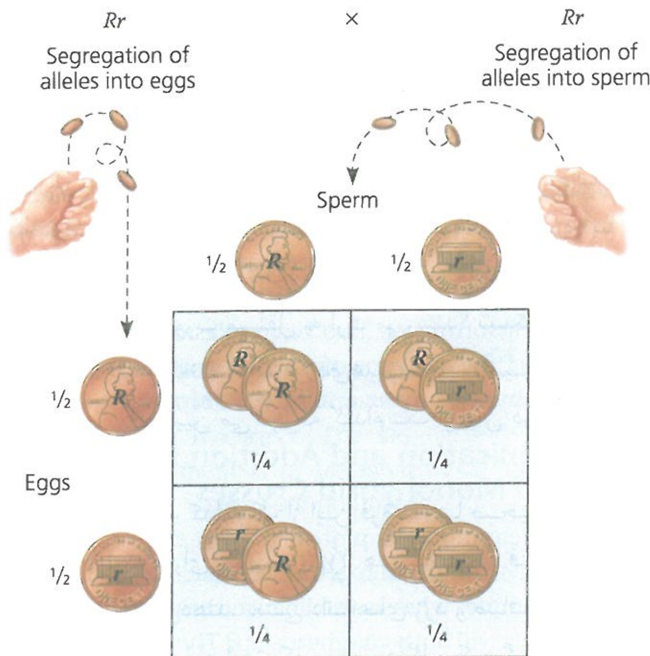
۲-۱۴ وراثت مندلی تابع قوانین احتمالات است

قوانین تفکیک و جور شدن مستقل ژن‌های مندل، از قوانین احتمالات مشابهی که بر پرتاب سکه، انداختن تاس و یا کشیدن کارت از بین کارت‌های بازی حکم‌فرماست، پیروی می‌کنند. میزان احتمال بین «۰» تا «۱» است. رویدادی که قطعاً اتفاق می‌افتد، دارای احتمال «۱» و رویدادی که قطعاً اتفاق نمی‌افتد، دارای احتمال «۰» می‌باشد. در سکه‌ای که در هر دو طرف دارای علامت شیر می‌باشد احتمال آمدن شیر «۱» است و احتمال آمدن خط «۰» می‌باشد. در یک سکهٔ معمولی شانس آمدن شیر یا خط هر کدام $\frac{1}{2}$ است. احتمال بیرون کشیدن آسِ پیک از بین ۵۲ کارت بازی، $\frac{1}{52}$ می‌باشد. مجموع احتمالات تمامی حالات ممکن برای یک رویداد باید یک شود. در مورد کارت‌های بازی، احتمال بیرون کشیدن کارت‌های دیگری به‌جز آسِ پیک، $\frac{51}{52}$ است.

پرتاب سکه مطلب مهمی را دربارهٔ احتمالات بیان می‌کند. در هر بار انداختن سکه، احتمال آمدن شیر $\frac{1}{2}$ است. نتیجهٔ هر بار پرتاب، بدون تأثیر از پرتاب‌های گذشته و کاملاً مستقل است. به پدیده‌هایی همچون پرتاب سکه رویدادهای مستقل می‌گویند. هر بار پرتاب سکه، چه به‌صورت پشت سر هم، چه با چند عدد سکه به‌صورت هم‌زمان، از سایر پرتاب‌ها مستقل است. همانند دو سکهٔ مجزا، الل‌های مربوط به یک ژن نیز به‌طور مستقل از سایر الل‌های ژن‌های دیگر وارد گامت‌ها می‌شوند (قانون جور شدن مستقل ژن‌ها). دو قانون اصلی احتمالات می‌توانند ما را در پیش‌بینی نتایج حاصل از آمیزش این گامت‌ها در آمیزش‌های سادهٔ مونوهیبریدی و یا آمیزش‌های کمی پیچیده‌تر یاری کنند.

قوانین ضرب و جمع مربوط به آمیزش‌های مونوهیبریدی

چگونه می‌توان احتمال وقوع دو یا چند رویداد مستقل را که با هم و با یک ترکیب خاص رخ می‌دهند، مشخص کرد؟ برای مثال، احتمال آمدن شیر در دو سکه که همزمان با هم پرتاب شده‌اند، چقدر است؟ **قانون ضرب**[1] این احتمال را مشخص می‌کند. ما احتمال وقوع رویداد اول (آمدن شیر در یکی از سکه‌ها) را در احتمال وقوع رویداد دیگر (آمدن شیر در سکهٔ دوم) ضرب می‌کنیم. برطبق قانون ضرب، احتمال اینکه هر دو سکه شیر بیایند $\frac{1}{2}\times\frac{1}{2}=\frac{1}{4}$ خواهد بود.



شکل ۹- ۱۴ تفکیک الل‌ها و لقاح به‌عنوان رویدادهای تصادفی. *هنگامی‌که یک فرد هتروزیگوت (Rr) تولید گامت می‌کند، تفکیک الل‌ها همانند پرتاب سکه می‌باشد. ما می‌توانیم احتمال ایجاد هر ژنوتیپی که در میان فرزندان مشاهده می‌شود را از طریق ضرب کردن احتمال به‌وجود آمدن اسپرم و تخمکی که آن الل مشخص را دارند به‌دست بیاوریم (R یا r در این مثال).*

ما می‌توانیم این مطلب را در مورد آمیزش مونوهیبریدی در نسل F_1 نیز به‌کار ببریم. اگر شکل دانه را در نخودفرنگی به‌عنوان یک صفت وراثتی درنظر بگیرید، ژنوتیپ افراد F_1، Rr خواهد بود. تفکیک الل‌ها در گیاهان هتروزیگوس همانند پرتاب سکه خواهد بود: هر تخمک حاصله دارای $\frac{1}{2}$ احتمال برای داشتن الل غالب R و $\frac{1}{2}$ احتمال برای داشتن الل مغلوب r خواهد بود. همین احتمالات برای اسپرم تولیدشده نیز وجود دارد. برای داشتن گیاهی با دانهٔ چروکیده (حالت مغلوب) در نسل F_2، هر دو تخمک و اسپرمی که برای لقاح نیاز است باید حاوی الل مغلوب یعنی r باشند. احتمال اینکه هر دو گامت حاوی الل r باشند عبارت است از: (احتمال اینکه اسپرم r داشته باشد) $\frac{1}{2}\times$ (احتمال اینکه تخمک r داشته باشد) $\frac{1}{2}$. بنابراین قانون ضرب به ما می‌گوید که احتمال اینکه گیاه نسل F_2 دارای دانهٔ چروکیده باشد (rr)، $\frac{1}{4}$ است (**شکل ۹- ۱۴**). همچنین احتمال داشتن گیاهی در نسل F_2 که هر دو الل غالب را داشته باشد نیز $\frac{1}{4}$ است (RR).

برای به‌دست آوردن احتمال هتروزیگوس بودن گیاه نسل F_2 در آمیزش مونوهیبریدی باید از قانون دوم کمک بگیریم. به

1- Multiplication rule

شکل ۹- ۱۴ توجه کنید. الل غالب می‌تواند از تخمک و الل مغلوب از اسپرم آمده باشد یا بالعکس. یعنی گامت‌های نسل F_1 می‌توانند در دو حالت مجزا و دوطرفه با هم ترکیب شده و فرد *Rr* را تولید کنند: برای تشکیل فرد هتروزیگوس در نسل F_2 الل غالب می‌تواند به‌وسیلهٔ اسپرم یا تخمک اما نه هر دوی آنها آمده باشد. برطبق **قانون جمع**[1]، احتمال اینکه یکی از دوتا یا بیشتر از رویدادهای دوطرفه و انحصاری رخ دهد برابر است با حاصل‌جمع هریک از احتمالات آنها به‌صورت مجزا. همان‌طوری‌که دیدیم قانون ضرب، احتمالات مجزا (احتمال ایجاد افراد) را به ما می‌دهد تا بتوانیم با هم جمع کنیم. احتمال یکی از راه‌های ممکن برای ایجاد فرد هتروزیگوس در F_2 ـ الل غالب توسط تخمک و الل مغلوب توسط اسپرم تأمین شود ـ $\frac{1}{4}$ است. احتمال ایجاد این فرد از راه دیگر ـ یعنی الل مغلوب از طرف تخمک و الل غالب از طرف اسپرم تأمین شود ـ نیز $\frac{1}{4}$ است (شکل ۹- ۱۴ را ببینید). با استفاده از قانون جمع می‌توان احتمال ایجاد فرد هتروزیگوس در نسل F_2 را به‌صورت $\frac{1}{4}+\frac{1}{4}=\frac{1}{2}$ محاسبه کرد.

حل مسائل پیچیدهٔ ژنتیکی توسط قوانین احتمالات

می‌توان از قوانین احتمالات برای پیش‌بینی آمیزش‌هایی که در آنها چند صفت مدنظر است نیز استفاده کرد. به‌یاد آورید که هر جفت الل به‌صورت مستقل از جفت الل‌های دیگر برای تشکیل گامت‌ها از هم تفکیک می‌شوند (قانون جور شدن مستقل ژن‌ها). بنابراین، آمیزش دی‌هیبریدی و یا چندصفتی، معادل دو یا چند آمیزش مستقل مونوهیبریدی می‌باشد که به‌طور همزمان اتفاق می‌افتند. با استفاده از آنچه در مورد آمیزش‌های مونوهیبریدی آموختیم می‌توانیم احتمال ایجاد ژنوتیپ‌های مورد نظر را در نسل F_2 بدون نیاز به ترسیم یک مربع پانت بزرگ به‌دست آوریم.

آمیزش دی‌هیبریدی بین هتروزیگوت‌های *YyRr* را که در شکل ۸- ۱۴ نمایش داده شده درنظر بگیرید. ما اول به بررسی صفت رنگ دانه می‌پردازیم. برای آمیزش مونوهیبریدی در گیاهان *Yy*، احتمال ایجاد ژنوتیپ‌های مختلف در فرزندان عبارت است از: $\frac{1}{4}$ برای YY، $\frac{1}{2}$ برای *Yy*، و $\frac{1}{4}$ برای *yy*. در مورد شکل دانه نیز همین احتمالات برقرار است: $\frac{1}{4}$ *rr*، $\frac{1}{2}$ *Rr*، و $\frac{1}{4}$ *RR*. با توجه به داشتن این نسبت‌ها می‌توان به‌راحتی با استفاده از قانون ضرب، احتمال ایجاد هریک از ژنوتیپ‌های افراد F_2 را محاسبه کرد. برای مثال، احتمال ایجاد فردی در نسل F_2 که دارای ژنوتیپ *YYRR* می‌باشد $\frac{1}{4}\times\frac{1}{4}=\frac{1}{16}$ است. این مطلب معادل مربع سمت چپ و بالای مربع پانتی است که در شکل ۸- ۱۴ ملاحظه می‌کنید. یک مثال دیگر: احتمال اینکه فردی از نسل F_2 دارای ژنوتیپ *YyRR* باشد، $\frac{1}{2}(Yy)\times\frac{1}{4}(RR)=\frac{1}{8}$ است. اگر خوب به مربع پانت موجود در شکل ۸- ۱۴ دقت کنید، درمی‌یابید که دو تا از شانزده خانهٔ آن توسط ژنوتیپ *YyRR* پر شده است.

حال با استفاده از قانون جمع علاوه بر ضرب، مسائلی پیچیده‌تر از ژنتیک مندلی را حل می‌کنیم. برای مثال، آمیزشی را بین دو نوع مختلف نخودفرنگی درنظر بگیرید که در آن وراثت سه صفت دنبال می‌شود. فرض کنید که یک نخود تری‌هیبرید با گلبرگ ارغوانی و دانه‌های صاف و زرد (برای هر سه صفت هتروزیگوس است) را با گیاه گلبرگ ارغوانی و دانه‌های سبز و چروکیده (برای رنگ گلبرگ، هتروزیگوس اما برای دو صفت دیگر، هوموزیگوس می‌باشد) آمیزش بدهیم. با استفاده از علائم مندلی، آمیزش ما به‌صورت *PpYyRr* × *Ppyyrr* خواهد بود. چه نسبتی از فرزندان حاصل از این آمیزش، حداقل برای دو صفت، حالت مغلوب را بروز می‌دهند؟

برای پاسخ‌گوئی به این سؤال می‌توان ابتدا تمامی حالات ممکن برای برآوردن این شرایط را نوشت: *ppyyRr*، *ppYyrr*، *Ppyyrr*، *PPyyrr*، و *ppyyrr* (از آنجایی‌که در صورت سؤال اشاره شده **حداقل** دو صفت را به‌صورت مغلوب بروز دهد، حالت آخر که هر سه صفت به صورت مغلوب هستند نیز محسوب می‌شود). در مرحلهٔ بعدی احتمال ایجاد هریک از این ژنوتیپ‌ها را از آمیزش *PpYyRr* × *Ppyyrr* به کمک ضرب احتمال ایجاد تک‌تک نسبت‌های مستقل جفت الل‌ها در هم به‌دست می‌آوریم، درست مانند مثالی که در مورد آمیزش دی‌هیبریدی انجام دادیم. توجه داشته باشید که در آمیزش‌هایی که هم جفت الل هتروزیگوس و هم جفت الل هوموزیگوس در آن شرکت دارند (برای مثال *Yy* × *yy*) احتمال ایجاد فرزند هتروزیگوس و هوموزیگوس هرکدام $\frac{1}{2}$ می‌باشد. در نهایت با استفاده از قانون جمع، احتمال ایجاد تمامی ژنوتیپ‌های ممکن را با هم جمع می‌کنیم. همانند آنچه در زیر مشاهده می‌کنید:

1- Addition rule

با تمرین بیشتر می‌توانید مسائل ژنتیک را با سرعت بیشتر و با استفاده از قوانین احتمالات به‌جای مربع پانت حل نمائید.

نمی‌توان با قاطعیت تعداد فرزندان با ژنوتیپ‌های مختلف حاصل از یک آمیزش را بیان کرد. اما قوانین احتمالات، احتمال ایجاد انواع مختلف را به ما می‌دهند. معمولاً هرچه اندازهٔ نمونه بزرگ‌تر باشد، نتیجه به پیش‌بینی ما نزدیک‌تر خواهد بود. علت اینکه مندل تعداد زیادی از نسل‌های حاصل از آمیزش‌هایش را می‌شمرد این بود که به این جنبهٔ آماری وراثت و قوانین احتمال پی برده بود.

پرسش‌های مبحث ۲-۱۴

۱. برای ژنی که الل غالب آن C و الل مغلوب آن c می‌باشد چه نسبتی از فرزندان حاصل از آمیزش $CC \times Cc$، هوموزیگوس غالب، هوموزیگوس مغلوب، و هتروزیگوس خواهند بود؟

۲. جانداری با ژنوتیپ $BbDD$ با جاندار دیگری با ژنوتیپ $BBDd$ آمیزش کرده است. با فرض جور شدن مستقل این ژن‌ها، تمام ژنوتیپ‌های حاصل از این آمیزش به‌همراه احتمال ایجاد آنها را با استفاده از قوانین احتمالات بنویسید.

۳. **چه می‌شد اگر؟** سه صفت (رنگ گل، رنگ دانه، و شکل غلاف) در آمیزشی بین دو گیاه نخودفرنگی درنظر گرفته می‌شوند ($PpYyIi \times ppYyii$). انتظار می‌رود چه کسری از زاده‌ها حداقل برای دو صفت از این سه صفت، هوموزیگوس مغلوب باشند؟

برای مشاهدهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۱۴ الگوهای وراثتی، اغلب پیچیده‌تر از آن هستند که توسط ژنتیک سادهٔ مندلی قابل پیش‌بینی باشند

در قرن بیستم، متخصصان علم ژنتیک، اصول ژنتیک مندلی را در مورد جانداران گوناگون و همچنین در مورد الگوهایی پیچیده‌تر از آنچه مندل بیان کرده بود، گسترش دادند. این از استعداد و خوش‌شانسی مندل بود که گیاه نخودفرنگی را انتخاب کرد زیرا این گیاه اصول ژنتیکی نسبتاً ساده‌ای داشت: هر صفتی که مندل بررسی کرد توسط یک ژن خاص کنترل می‌شد که دارای دو الل بود که یکی کاملاً بر دیگری غالب بود[۱]. اما این حالات در مورد تمام صفات ارثی صدق نمی‌کنند، حتی در مورد نخودفرنگی ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ به‌ندرت به این سادگی است. این مسأله هرگز کاربرد ژنتیک مندلی را تقلیل نمی‌دهد (ژنتیک مندلی را مندلیسم[۲] نیز می‌نامند). به‌هرحال، از آن‌جایی‌که اصول پایه‌ای تفکیک و جور شدن مستقل ژن‌ها بر الگوهای پیچیده‌تر نیز حکم‌فرماست، در این قسمت ما ژنتیک مندلی را در مورد الگوهایی که وی به آنها نپرداخته بود، گسترش می‌دهیم.

بسط ژنتیک مندلی در مورد صفات تک‌ژنی

صفات تک‌ژنی زمانی از الگوهای سادهٔ مندلی پیروی نمی‌کنند که الل‌های آنها کاملاً غالب یا مغلوب نباشند، یا یک ژن خاص بیشتر از دو الل داشته باشد، یا زمانی‌که یک ژن فنوتیپ‌های متفاوتی را ایجاد کند. در این قسمت برروی مثال‌هایی در مورد هریک از این حالات می‌پردازیم.

درجه‌های غالبیت[۳]

الل‌ها می‌توانند درجه‌های مختلفی از غالب یا مغلوب بودن را نسبت به هم نشان دهند. یکی از حالات انتهایی این طیف، در فرزندان نسل F_1 در آمیزش‌های کلاسیک مندلی دیده می‌شود. گیاهان نسل F_1 همواره شبیه یکی از والدین خویش بودند زیرا یکی از الل‌ها در یک جفت الل نسبت به الل دیگر **غالبیت کامل**[۴] داشت. در این حالت، فنوتیپ افراد هتروزیگوس غالب و هوموزیگوس غالب غیرقابل تشخیص خواهد بود.

اما در برخی ژن‌ها، هیچ‌کدام از الل‌ها به‌طور کامل غالب نیستند، و دورگه‌های نسل F_1 دارای فنوتیپی بینابین فنوتیپ دو والد خود هستند، به این پدیده **غالبیت ناقص**[۵] می‌گویند و هنگامی دیده می‌شود که گل میمونی قرمزرنگ با گل میمونی سفید با هم آمیزش کنند: تمامی دورگه‌های نسل F_1، صورتی خواهند بود (**شکل ۱۰-۱۴**). این فنوتیپ سوم، مربوط به گل‌های هتروزیگوس است که رنگیزه‌های قرمز کمتری نسبت به گل‌های قرمز هوموزیگوس دارند (برخلاف نخودفرنگی‌های مندل، که در آنها هتروزیگوت‌ها (Pp) به اندازه‌ای رنگیزهٔ ارغوانی می‌ساختند که از افراد PP قابل تشخیص نبودند).

در نگاه اول، به‌نظر می‌رسد که غالبیت ناقص از فرضیهٔ آمیختگی صفات حمایت کند، فرضیه‌ای که بیان می‌کرد که هرگز نمی‌توان رنگ قرمز و سفید را از دورگه‌های صورتی بازیافت کرد. اما درحقیقت، آمیزش بین دورگه‌های F_1، فرزندان نسل F_2 را تولید می‌کند که دارای نسبت فنوتیپی یک قرمز به دو صورتی به یک سفید هستند (از آنجایی‌که هتروزیگوت‌ها دارای فنوتیپ مجزایی هستند، نسبت فنوتیپی و ژنوتیپی در نسل F_2 مثل هم است، ۱:۲:۱). تفکیک الل‌های مربوط

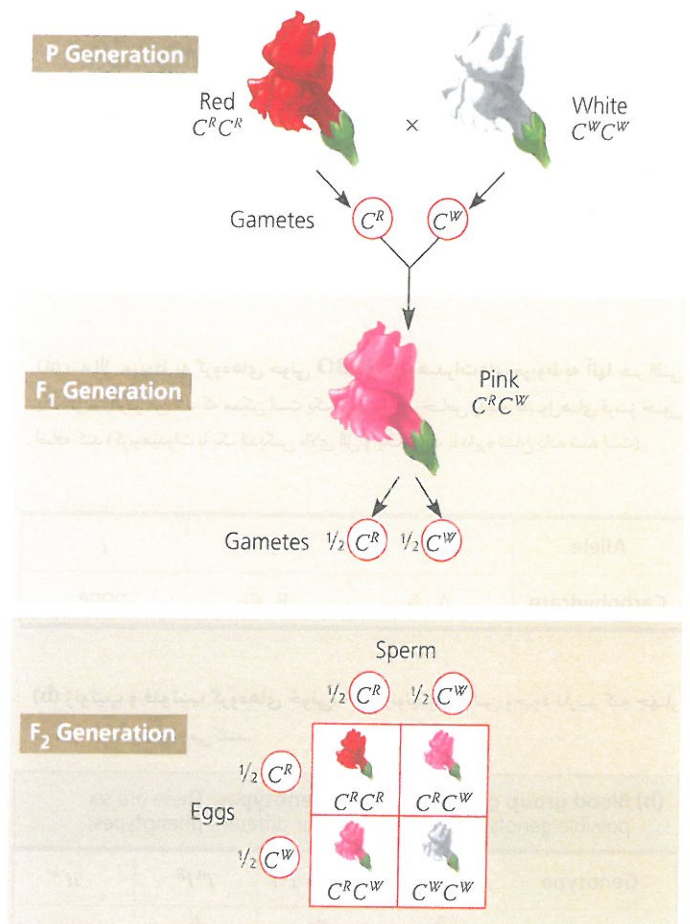
۱- تنها یک استثنا وجود داشت: ژنتیک‌دان‌ها دریافتند که صفت مربوط به موقعیت گل توسط دو ژن کنترل می‌شود.

2- Mendelism

3- Degrees of dominance
4- Complete dominance
5- Incomplete dominance

به گلبرگ قرمز و سفید در گامت‌های حاصل از گل‌های صورتی، این مطلب را تأیید می‌کند که الل‌های رنگ گل، عامل‌هایی وراثتی هستند که در گیاهان دورگه نیز خصوصیات خود را حفظ کرده‌اند. بنابراین نتیجه می‌گیریم که وراثت به‌صورت ذره‌ای است.

حالت دیگر، **هم‌توانی**[1] است که در آن هریک از دو الل به‌صورت جداگانه برروی فنوتیپ اثر می‌گذارند و اثر هرکدام قابل تشخیص است. برای مثال، گروه خونی MN در انسان توسط دو الل مختلف تعیین می‌شود که هرکدام مولکول خاصی را (مولکول M و مولکول N) برسطح گلبول‌های قرمز ایجاد می‌کنند. یک جایگاه ژنی که دو نوع الل مختلف می‌توانند در آن قرار بگیرند، این نوع گروه خونی را تعیین می‌کند. افرادی که برای الل M هوموزیگوس هستند (MM)، در گلبول‌های قرمز خود فقط مولکول M را دارند و افرادی که برای الل N هوموزیگوس هستند (NN)، در گلبول‌های قرمز خود تنها مولکول N را دارند. اما هر دو مولکول M و N در گلبول قرمز افرادی که هتروزیگوس هستند (MN) وجود دارد. توجه داشته باشید که فنوتیپ MN یک حالت بینابینی میان فنوتیپ‌های M و N نیست بلکه هر دو فنوتیپ M و N در حالت هتروزیگوس مشاهده می‌شوند زیرا هر دو مولکول وجود دارند.



◀ **شکل ۱۰-۱۴ غالبیت ناقص در رنگ گل‌های میمونی.** *هنگامی‌که گل‌های قرمز را با گل‌های سفید دگرلقاحی دهیم، دورگه‌های نسل F_1 دارای گل‌های صورتی خواهند بود. تفکیک الل‌های نسل F_1 در گامت‌ها و سپس ترکیب شدن آنها با هم، نسل F_2 را ایجاد می‌کند که دارای نسبت ژنوتیپی و فنوتیپی ۱:۲:۱ است. بالانویس‌ها الل مربوط به رنگ گل را مشخص می‌کند: C^R برای قرمز و C^W برای سفید.*

؟ فرض کنید هم‌کلاسی شما استدلال می‌کند که این شکل فرضیهٔ آمیختگی صفات را تأیید می‌کند. هم‌کلاسی شما ممکن است چه بگوید و عکس‌العمل شما چیست؟

رابطهٔ بین غالبیت و فنوتیپ

دیدیم که گسترهٔ تأثیر دو الل برروی هم، از غالب بودن کامل یک الل، غالبیت ناقص یکی از الل‌ها، تا هم‌توانی هر دو الل است. فهم این مطلب بسیار مهم است که به اللی غالب می‌گویند که در فنوتیپ دیده می‌شود، نه اللی که الل مغلوب را مقهور خود می‌سازد. به‌یاد آورید که الل‌ها تنوع در ترتیب نوکلئوتیدهایِ یک ژن هستند. هنگامی‌که در یک فرد هتروزیگوت، الل غالب با الل مغلوب همراه می‌شود درحقیقت هیچ واکنشی بین آنها صورت نمی‌گیرد. درواقع در گذر از ژنوتیپ تا فنوتیپ است که غالبیت و مغلوبیت مطرح می‌شود.

برای توضیح رابطهٔ بین غالبیت و فنوتیپ می‌توانیم از یکی از صفات مندلی استفاده کنیم (صاف و چروکیده بودن دانهٔ نخودفرنگی). الل غالب (صاف بودن)، آنزیمی را رمز می‌کند که به تبدیل شکل غیرمنشعبی از نشاسته به شکل منشعب در دانه، کمک می‌کند. الل مغلوب (چروکیده بودن) شکل ناقصی از این آنزیم را رمز می‌کند، که منجر به تجمع نشاستهٔ غیرمنشعب می‌شود. نشاستهٔ غیرمنشعب سبب ورود آب اضافی به دانه از طریق اسمز می‌شود. بعداً، هنگامی‌که دانه خشک می‌شود، چروکیده می‌گردد. در عوض، اگر الل غالب حضور داشته باشد، دانه‌ها آب اضافی جذب نمی‌کنند و هنگامی‌که خشک می‌شوند چروکیده نمی‌گردند. یک الل غالب برای تولید آنزیم مورد نیاز کافی است. بنابراین هوموزیگوت‌های غالب و هتروزیگوت‌ها دارای فنوتیپ مشابهی هستند: دانه‌هایی صاف دارند.

نگاهی دقیق‌تر به رابطهٔ بین غالبیت و فنوتیپ، نکتهٔ دیگری را آشکار می‌کند: برای هر صفتی، رابطهٔ غالبیت / مغلوبیت الل‌ها بستگی به سطح بررسیِ فنوتیپ دارد. **بیماری تای ـ ساکس**[2] یک اختلال ژنتیکی در انسان است که به‌عنوان نمونه به بررسی آن می‌پردازیم. مغز کودکان مبتلا به بیماری به‌دلیل عدم کارکرد یکی

1- Codominance

2- Tay - Sachs disease

از آنزیم‌های مهم قادر به متابولیسم نوع خاصی از لیپیدها نمی‌باشد. همچنان‌که این لیپیدها در مغز تجمع می‌یابند کودک دچار حمله‌های ناگهانی، کوری و کاهش توانایی‌های ذهنی و حرکتی می‌شود، و در نهایت کودک بیمار پس از چند سال به‌علت بیماری می‌میرد.

تنها کودکانی که دو الل را برای بیماری تای ـ ساکس دریافت کرده‌اند (هوموزیگوت‌ها) به بیماری مبتلا می‌شوند. بنابراین از این دیدگاه (در سطح *جاندار*)، الل تای ـ ساکس مغلوب می‌باشد. اما میزان فعالیت آنزیم متابولیزه‌کنندهٔ لیپید در افراد هتروزیگوت، حالتی بینابین افراد هوموزیگوس برای الل‌های طبیعی و افراد هوموزیگوس برای الل‌های تای ـ ساکس (مبتلایان به بیماری) می‌باشد. فنوتیپ بینابینی مشاهده‌شده در سطح *بیوشیمیایی*، مشخصهٔ غالبیت ناقصِ هر دو الل است. خوشبختانه در حالت هتروزیگوت، علائم بیماری ظاهر نمی‌شود، ظاهراً به این دلیل که نصف میزان آنزیم نیز برای جلوگیری از تجمع لیپید در مغز کافی است. اگر بخواهیم بررسی‌های خود را به سطح دیگری گسترش دهیم، درمی‌یابیم که افراد هتروزیگوس، به تعداد برابری آنزیم طبیعی و آنزیم معیوب می‌سازند. بنابراین در سطح *مولکولی*، الل سالم و الل تای ـ ساکس با هم هم‌توان هستند. درنتیجه، همان‌گونه‌که مشاهده می‌کنید، تعیین روابط الل‌ها نسبت به‌هم (غالبیت کامل، غالبیت ناقص، یا هم‌توانی) به سطحی که فنوتیپ در آن آنالیز می‌شود، بستگی دارد.

فراوانی الل‌های غالب

با آنکه ممکن است تصور کنید که فراوانی الل غالبِ یک صفت خاص از الل مغلوب آن بیشتر است اما همیشه این‌طور نیست. برای مثال، در آمریکا تقریباً از هر ۴۰۰ کودک یکی با انگشت اضافه در دستان یا پاها به‌دنیا می‌آید، حالتی که به آن پلی‌داکتیلی[1] می‌گویند. الل مربوط به حالت غیرطبیعی (پلی‌داکتیلی) نسبت به الل حالت نرمال (پنج انگشت در هر دست) غالب است. بنابراین در جمعیت، فراوانی الل مغلوب این صفت خیلی بیشتر از فراوانی الل غالب آن می‌باشد. در فصل ۲۳ می‌آموزید که چگونه فراوانی نسبی الل‌ها در یک جمعیت تحت تأثیر انتخاب طبیعی قرار می‌گیرد.

چندالل

برای صفاتی که مندل در نخودفرنگی‌ها به بررسی آنها پرداخته بود، تنها دو الل وجود داشت. این درحالی‌است که بیشتر صفاتی که در جمعیت وجود دارند دارای بیش از دو الل می‌باشند. برای مثال، گروه خونی ABO در انسان توسط یک ژن سه اللی(I^A، I^B و i) کنترل می‌شود، این صفت دارای چهار فنوتیپ است: گروه خونی افراد ممکن است A، B، AB، یا O باشد. این حروف مربوط به دو کربوهیدرات هستند (A و B) که ممکن است بر سطح گلبول‌های قرمز یافت شوند. گلبول‌های قرمز یک فرد ممکن است کربوهیدرات نوع A (گروه خونی A)، کربوهیدرات نوع B (گروه خونی B)، یا هر دو آنها (گروه خونی AB)، یا هیچ‌کدام (گروه خونی O) را برسطح خود داشته باشند، که نمایش شماتیک این مطلب را در **شکل ۱۱- ۱۴** مشاهده می‌کنید.

چندشکلی (پلیوتروپی)

تا اینجا در الگوی وراثتی مندل این‌گونه پنداشتیم که هر ژن فقط یک صفت فنوتیپی را ایجاد می‌کند. حال آن‌که، بیشتر ژن‌ها دارای اثرات فنوتیپی متعددی هستند. به این حالت **چندشکلی** یا **پلیوتروپی**[2] می‌گویند (ریشهٔ این لغت از واژهٔ یونانی *pleion* به معنای بیشتر می‌باشد). برای مثال، الل‌های پلیوتروپیک مسئول علائم گوناگون

(a) سه الل مربوط به گروه‌های خونی ABO و کربوهیدرات‌های مربوط به آنها. هر اللی یک آنزیم را رمز می‌کند که ممکن است یک کربوهیدرات خاص را به گلبول‌های قرمز خون اضافه کند (کربوهیدرات با یک اندیکس بالای الل و یک مثلث یا دایره نشان داده شده است).

Allele	I^A	I^B	i
Carbohydrate	A △	B ○	none

(b) ژنوتیپ و فنوتیپ گروه‌های خونی. شش ژنوتیپ ممکن وجود دارند که چهار فنوتیپ مختلف ایجاد می‌کنند.

(b) Blood group genotypes and phenotypes. There are six possible genotypes, resulting in four different phenotypes.

Genotype	I^AI^A or I^Ai	I^BI^B or I^Bi	I^AI^B	ii
Red blood cell appearance				
Phenotype (blood group)	A	B	AB	O

◄ **شکل ۱۱- ۱۴ الل‌های مختلف برای گروه‌های خونی ABO.** چهار نوع گروه خونی از ترکیب مختلف سه الل ایجاد می‌شوند.

؟ با توجه به فنوتیپ ایجادشده توسط کربوهیدرات سطحی در (b)، رابطهٔ غالب و مغلوبی بین الل‌ها چگونه است؟

1- Polydactyly

2- Pleiotropy

بیماری‌های وراثتی در انسان‌ها هستند، مثل سیستیک فایبروزیس و گلبول قرمز داسی‌شکل که در ادامهٔ این فصل با آنها آشنا خواهید شد. واکنش‌های پیچیدهٔ سلولی و مولکولی را که مسئول نمو و فیزیولوژی جاندار هستند، درنظر بگیرید. عجیب نیست که یک ژن بتواند بر تعدادی از صفات یک جاندار اثر بگذارد.

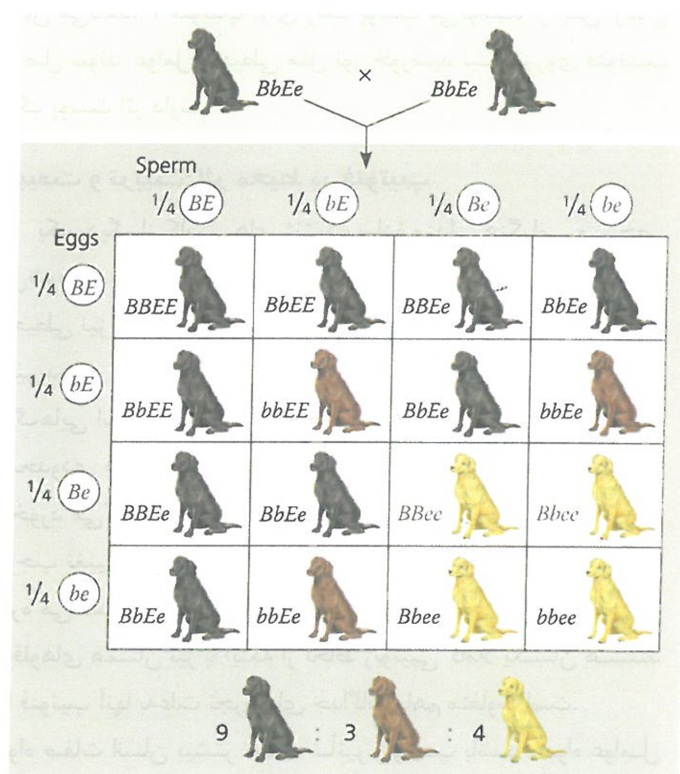
بسط ژنتیک مندلی به صفات دو یا چند ژنی

رابطهٔ غالب و مغلوبی، صفات چنداللی، و پلیوتروپی تماماً مرتبط با اثرات الل‌های مربوط به یک ژن هستند. اکنون به بررسی دو حالت می‌پردازیم که در آنها دو یا چندِ ژن مسئول تعیین یک فنوتیپ خاص هستند.

اپی‌ستازی

در **اپی‌ستازی**[1] (از لغتی یونانی به‌معنای ایستادن)، یک ژن در یک لوکوس، بیان فنوتیپی ژن دیگر در یک لوکوس دیگر را تغییر می‌دهد. یک مثال، مطلب را روشن می‌کند. در سگ‌های لابرادور پوشش سیاه بر قهوه‌ای غلبه دارد. حروف B و b را به‌عنوان الل‌های مربوط به این صفت انتخاب می‌کنیم. بنابراین اگر سگی دارای موهای قهوه‌ای‌رنگ باشد، ژنوتیپ آن bb خواهد بود. اما هنوز قسمتی از ماجرا باقی مانده است. ژن دیگری امکان رسوب رنگیزه را در مو تعیین می‌کند. الل غالبی که با E نشان می‌دهیم باعث می‌شود تا با توجه به ژنوتیپ سگ در لوکوس اول، رنگیزهٔ مربوطه (قهوه‌ای یا سیاه) در مو رسوب کند. اما اگر سگ برای لوکوس دوم، هوموزیگوس مغلوب باشد (ee)، آن‌گاه صرف نظر از ژنوتیپ لوکوس سیاه/ قهوه‌ای، پوشش سگ به رنگ زرد درمی‌آید. در این مورد، ژن مربوط به رسوب رنگیزه (E/e) را اپی‌استاتیکِ ژن رمزکنندهٔ رنگیزهٔ قهوه‌ای یا سیاه می‌نامیم (B/b).

اگر ما سگ‌های سیاهی که برای هر دو صفت هتروزیگوس هستند را با هم آمیزش دهیم چه اتفاقی می‌افتد (BbEe)؟ با اینکه هر دو ژن برروی یک صفت فنوتیپی (رنگ مو) تأثیر دارند، اما از قانون جور شدن مستقل ژن‌ها پیروی می‌کنند. بنابراین آزمایش ما، همانند آمیزش دورگه‌های نسل F_1 در نخودفرنگی‌های مندل است که نسبت فنوتیپی ۹:۳:۳:۱ را ایجاد کردند. برای یافتن ژنوتیپ فرزندان نسل F_2 می‌توانیم از مربع پانت استفاده کنیم (**شکل ۱۲- ۱۴**). به‌دلیل وجود اپی‌ستازی، نسبت فنوتیپی در میان فرزندان F_2، ۹ سیاه به ۳ قهوه‌ای به ۴ زرد است. سایر روابط اپی‌ستازی می‌تواند نسبت‌های دیگری را ایجاد کنند اما همگی شکل تغییریافتهٔ نسبت ۹:۳:۳:۱ هستند.



شکل ۱۲- ۱۴ **مثالی از اپی‌ستازی.** *این مربع پانت، ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های پیش‌بینی‌شده برای زاده‌های حاصل از آمیزش بین دو سگ سیاه با ژنوتیپ BbEe را نشان می‌دهد. ژن E/e، که نسبت به ژن B/b اپی‌استاتیک است، رسوب رنگیزهٔ هر نوع رنگ را در مو کنترل می‌کند.*

وراثت چندژنی

مندل برروی صفاتی مطالعه کرد که دو حالت بیشتر نداشتند، مثل رنگ گلبرگ که یا ارغوانی بود یا سفید. اما بسیاری از صفات، مثل رنگ پوست و وزن انسان طیف بسیار گسترده‌ای دارند. بنابراین قراردادن آنها در گروه صفاتی که تنها دارای دو حالت هستند، غیرممکن است. به این صفات، **صفات کمّی**[2] (پیوسته) می‌گویند. کمّی بودن یک صفت معمولاً نشانهٔ **چندژنی**[3] بودن آن است، حالتی که در آن دو یا چند ژن مسئول تعیین یک فنوتیپ منفرد هستند (برعکسِ پیلوتروپی که در آن یک ژن منفرد، بر چند صفت فنوتیپی اثر می‌گذارد).

1- Epistasis

2- Quantitative characters

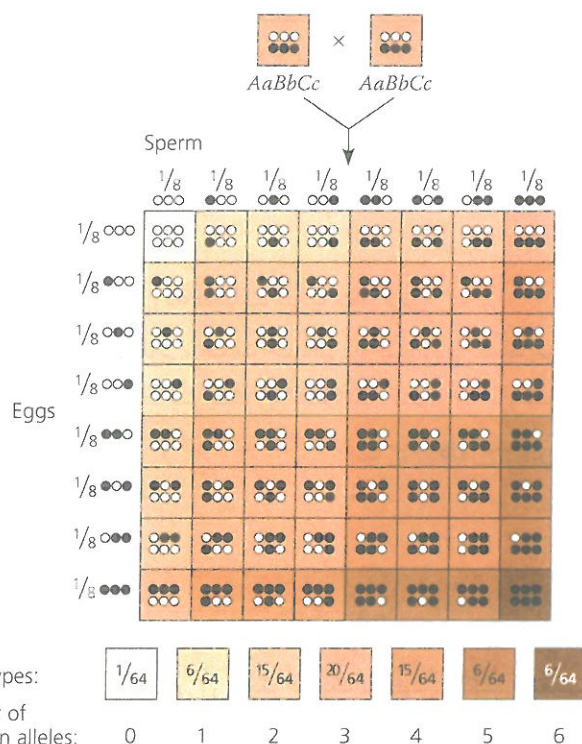
3- Polygenic

برای مثال، تعیین رنگ پوست در انسان حداقل توسط سه ژن کنترل می‌شود (البته احتمالاً این تعداد بیشتر است، اما ما مطلب را ساده می‌کنیم). ما سه ژن را درنظر می‌گیریم که هرکدام دارای یک الل مربوط به پوست تیره هستند (A یا B، C). هرکدام از این الل‌ها به منزلهٔ یک «واحد» تیرگی هستند و نسبت به الل دیگر خود (a یا b، c) غالب ناقص می‌باشند. فردی با ژنوتیپ AABBCC بسیار تیره و فردی با ژنوتیپ aabbcc بسیار روشن خواهد بود. فردی که ژنوتیپ آن به‌صورت AaBbCc است دارای پوستی با حالت میانه است. از آن‌جائی‌که الل‌ها حالت جمع‌شونده دارند، ژنوتیپ‌های AaBbCc و AABbcc سهم ژنتیکی یکسانی برای تیره کردن پوست دارند (هرکدام دارای سه واحد تیرگی هستند). **شکل ۱۳- ۱۴** تمام ژنوتیپ‌های محتمل در میان فرزندان حاصل از یک ازدواج فرضی میان دو فرد هتروزیگوس برای هر سه ژن را نشان می‌دهد. همان‌طورکه مربع‌های ردیف پایین مربع پانت در شکل نشان می‌دهد، ۷ فنوتیپ برای رنگ پوست می‌توانند از این ازدواج حاصل شوند. عوامل محیطی مثل نور خورشید نیز برروی فنوتیپ رنگ پوست اثر دارند.

طبیعت و تربیت: اثر محیط بر فنوتیپ

یکی دیگر از کاستی‌های ژنتیک سادهٔ مندلی هنگامی مشخص می‌شود که با صفاتی برخورد کنیم که علاوه بر ژنوتیپ، عوامل محیطی نیز بر فنوتیپ آنها اثر دارد. برای مثال، یک درخت را درنظر بگیرید، این درخت محدود به ژنوتیپ خود می‌باشد، اما دارای برگ‌هایی است که از لحاظ اندازه، شکل و میزان سبزی، گسترهٔ نامحدودی دارند، که بستگی به میزان باد و نوری دارد که به آنها برخورد می‌کند. در مورد انسان‌ها، تغذیه بر قد اثر دارد، ورزش موجب تغییر بدن می‌شود، و قرار گرفتن در معرض آفتاب، پوست را تیره می‌کند. همچنین تجربه عملکرد هوشی را بالا می‌برد حتی در دوقلوهای همسان نیز با اینکه از لحاظ ژنوتیپی کاملاً یکسان هستند اما فنوتیپ آنها به‌علت تجربه‌های جداگانه، باهم متفاوت است.

خواه صفات انسان بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ باشد خواه عوامل محیطی (طبیعت و تربیت)، یک بحث بسیار جذاب قدیمی وجود دارد که می‌گوید ما برای اینجا ماندن تلاش نمی‌کنیم. به بیان دیگر، می‌توان گفت که یک ژنوتیپ عموماً مربوط به یک فنوتیپ معین و خاص نیست بلکه می‌تواند به گستره‌ای از فنوتیپ‌های ممکن که تحت تأثیر محیط متغیر هستند مربوط شود. به این طیف فنوتیپی، **گسترهٔ واکنش**[1] ژنوتیپ می‌گویند (**شکل ۱۴- ۱۴**). برای برخی از



شکل ۱۳- ۱۴ یک مدل ساده برای توارث چندژنی رنگ پوست. با توجه به این مدل، سه ژن که به‌صورت جداگانه به ارث می‌رسند میزان تیرگی پوست را تحت تأثیر قرار می‌دهند. افراد هتروزیگوس (AaBbCc) که با دو مستطیل در بالای این تصویر نشان داده شده‌اند، هرکدام سه الل مربوط به پوست تیره (دایره‌های سیاه که نمایانگر A، B و C هستند) و سه الل مربوط به پوست روشن (دایره‌های سفید که a، b و c را نشان می‌دهند) را دارند. مربع پانت، گامت‌ها و زاده‌های ایجادشده، ناشی از تعداد زیاد حالات لقاح بین گامت‌های این دو فرد هتروزیگوس را نشان می‌دهد. نتایج با نسبت‌های فنوتیپی در زیر مربع پانت خلاصه شده‌اند.

رسم کنید: یک منحنی از نتایج رسم کنید. رنگ پوست (تعداد الل‌های تیره) را در محور x و نسبت زاده‌ها را در محور y قرار دهید. یک منحنی متناسب با نتایج رسم کنید. در مورد اینکه این منحنی در رابطه با نسبت فنوتیپ‌های مختلف در میان زاده‌ها چه چیزی را نشان می‌دهد، بحث کنید.



شکل ۱۴- ۱۴ تأثیر محیط بر فنوتیپ. نتیجهٔ یک ژنوتیپ بستگی به گسترهٔ واکنش آن ژنوتیپ (یک طیف فنوتیپی که وابسته به محیطی است که آن ژنوتیپ در آن محیط بیان می‌شود) دارد. برای مثال در گل‌های ادریسی (*hydrangea*)، رنگ گلبرگ گل‌هایی با ژنوتیپ یکسان، از آبی تیره تا صورتی است که بستگی به اسیدیته و محتوای آلومینیوم خاک دارد.

1- Norm of reaction

صفات، مانند گروه‌های خونی ABO، این مقیاس واکنش هیچ‌گونه گستره‌ای ندارد، یعنی یک ژنوتیپ تنها یک فنوتیپ خاص و ثابت دارد. در عوض، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید یک شخص متغیر است و بستگی به میزان ارتفاع، فعالیت فیزیکی و وجود عوامل عفونی دارد.

عموماً، گسترهٔ واکنش در صفات چندژنی، وسیع‌ترین طیف را دارد، محیط در ماهیت کمّی این صفات مشارکت دارد همان‌طوری‌که در طیف پیوستهٔ رنگ پوست انسان مشاهده شد. متخصصان علم ژنتیک به این صفات، **صفات چندعاملی**[1] می‌گویند به این معنا که عوامل متعددی، هم از لحاظ ژنتیکی و هم از لحاظ محیطی، مجموعاً بر فنوتیپ آنها اثر دارند.

ترکیب دیدگاه مندلی وراثت با تنوع

در صفحات گذشته ما دیدگاه مندلی وراثت را با فهم درجات غالبیت و همچنین صفات چنداللی، پلیوتروپی، اپی‌ستازی، وراثت چندژنی، و فنوتیپ متأثر از محیط گسترش دادیم. چگونه می‌توان این مفاهیم را با تئوری جامع ژنتیک مندلی ترکیب کرد؟ پاسخ این است که دیدگاه کاهش‌گرایانهٔ صفات فنوتیپی و تک‌ژنی را باید تغییر داد و خواص مربوط به یک جاندار را به‌صورت یک مجموعه درنظر گرفت که این دیدگاه جدید یکی از موضوعات همین کتاب است.

واژهٔ *فنوتیپ* را نه‌تنها برای یک صفت خاص مثل رنگ گلبرگ و گروه خونی، بلکه برای یک جاندار به‌طور کامل درنظر می‌گیرند (یعنی تمام نمودهای فیزیکی، آناتومی داخلی، فیزیولوژی، و رفتار آن جاندار). همچنین واژهٔ *ژنوتیپ* را نیز می‌توان به کل ساختار ژنتیکی یک جاندار اطلاق کرد نه اینکه فقط به الل‌های مربوط به یک لوکوس ژنی محدود شود. در بیشتر موارد، تأثیر یک ژن بر فنوتیپ متأثر از سایر ژن‌ها و عوامل محیطی است. در این دیدگاه ترکیبیِ وراثت و تنوع، فنوتیپ جاندار منعکس‌کنندهٔ تمام ژنوتیپ و تاریخچهٔ محیطی خاصِ آن است.

اگر تمامی آنچه در مسیر ژنوتیپ تا فنوتیپ رخ داده است را درنظر بگیرید به‌راستی به نقش مهم مندل در کشف مفاهیم پایه‌ای که انتقال ژن‌ها از والدین به فرزندان را کنترل می‌کند، پی خواهید برد. دو قانون مندل، تفکیک و جور شدن مستقل ژن‌ها، تنوع‌های وراثتی را به‌عنوان حالات متغیر ژن‌ها (وراثت ذره‌ای) که به نسل‌های بعدی منتقل می‌شوند، براساس روابط سادهٔ احتمالات توجیه می‌کنند. این تئوری وراثت به‌طور یکسان برای نخودفرنگی‌ها، حشرات، ماهی‌ها، پرنده‌ها و انسان‌ها صادق است. به‌علاوه، با گسترش دادن مفاهیم تفکیک و جور شدن مستقل ژن‌ها برای کمک به فهم الگوهای وراثتی، مثل اپی‌ستازی و صفات کمّی، تازه به عظمت نظریهٔ مندلیسم می‌توان پی‌برد. نظریهٔ وراثت ذره‌ای که از حیاط کلیسای مندل آغاز شد پایهٔ ژنتیک پیشرفته و مدرن گردید. در قسمت آخر این فصل دربارهٔ مصادیق ژنتیک مندلی در وراثت صفات انسان صحبت می‌کنیم و بیشتر به بحث انتقال بیماری‌های وراثتی می‌پردازیم.

آزمون مبحث ۳-۱۴

۱. غالبیت ناقص و اپی‌ستازی، هر دو اصطلاحی هستند که روابط ژنتیکی را تعریف می‌کنند. مهم‌ترین تفاوت این دو اصطلاح چیست؟

۲. اگر مردی با گروه خونی AB با زنی با گروه خونی O ازدواج کند، چه گروه‌های خونی در بچه‌های آنها انتظار دارید؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** خروسی که پر آن خاکستری است با مرغی با فنوتیپ مشابه آمیزش می‌کند. در میان فرزندان آنها، ۱۵ جوجه خاکستری، ۶ جوجه سیاه، و ۸ جوجه سفید هستند. ساده‌ترین توضیح برای وراثت این رنگ‌ها در جوجه‌ها چیست؟ از آمیزش بین خروس خاکستری با مرغ سیاه چه فنوتیپ‌هایی را در جوجه‌ها پیش‌بینی می‌کنید؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۱۴-۴ بسیاری از صفات انسان از الگوی‌های وراثتی مندل پیروی می‌کنند

برخلاف نخودفرنگی، انسان برای تحقیقات ژنتیکی موجود مناسبی نیست، زیرا مدت هر نسل انسان حدود ۲۰ سال است و والدین انسان‌ها به نسبت نخود و سایر گونه‌های دیگر، تعداد فرزندان کمتری تولید می‌کنند. به‌علاوه، آزمایش‌های آمیزشی که مندل انجام می‌داد در مورد انسان غیرقابل پذیرش است. علی‌رغم این مشکلات، بررسی ژنتیک انسانی در حال پیشرفت است و علت این امر انگیزهٔ انسان برای آگاه شدن از نحوهٔ وراثت در خود می‌باشد. تکنیک‌های جدید در زیست‌شناسی مولکولی تأثیر شگرفی در این پیشرفت‌ها داشته که در فصل ۲۰ به بحث در این رابطه خواهیم پرداخت. البته ژنتیک مندلی به‌عنوان پایه‌های علم ژنتیک انسانی محسوب می‌شود.

1- Multifactorial characters

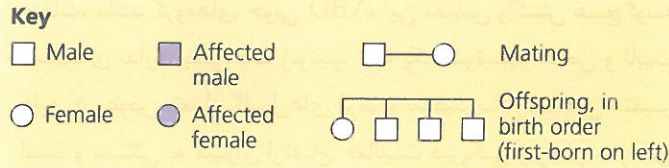
بررسی دودمانه

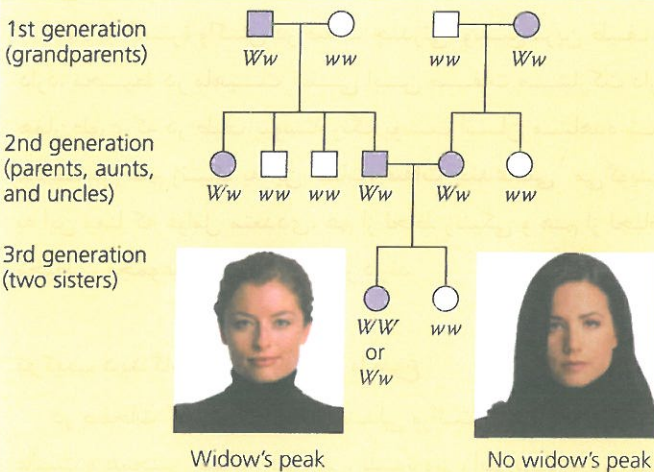
از آن‌جایی‌که ما قادر به کنترل الگوهای انتخاب همسر افراد نیستیم، متخصصان علم ژنتیک مجبور هستند تا به بررسی افراد حاصل از ازدواج‌هایی که رخ داده است بپردازند. آنها این کار را از طریق جمع‌آوری اطلاعات دربارهٔ تاریخچهٔ فامیلی یک صفت خاص و مرتب کردن این اطلاعات به‌صورت یک درخت خانوادگی که در آن روابط بین والدین و فرزندان طی نسل‌های متوالی مشخص شده است (**شجره‌نامهٔ (دودمانهٔ)**[1] خانوادگی)، انجام می‌دهند.

شکل ۱۵a- ۱۴ یک دودمانهٔ سه نسلی را نشان می‌دهد که در آن صفت مربوط به نقطهٔ رویش مو بر پیشانی بررسی شده است. این صفت که به آن widow's peak[2] می‌گویند مربوط به اللی غالب می‌باشد و آن‌را با W نشان می‌دهیم. افرادی که فاقد حالت widow's peak هستند باید هوموزیگوس مغلوب باشند (ww). پدربزرگ و مادربزرگ موجود در این دودمانه می‌بایست هتروزیگوس باشند (Ww) زیرا برخی از زاده‌های آنان هوموزیگوس مغلوب هستند. فرزندان نسل دوم که دارای صفت widow's peak هستند نیز باید هتروزیگوس باشند زیرا از آمیزش $Ww \times ww$ حاصل شده‌اند. نسل سوم در این دودمانه از دو خواهر تشکیل شده است. خواهری که دارای widow's peak است، می‌توانند هوموزیگوس (WW) و یا هتروزیگوس (Ww) باشد اما خواهر دیگر حتماً هوموزیگوس (ww) است.

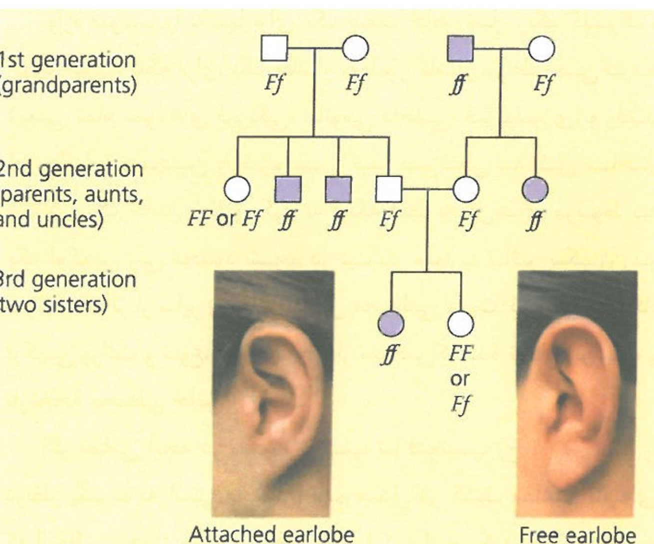
شکل ۱۵b- ۱۴ دودمانهٔ مربوط به همان خانواده را نشان می‌دهد اما این بار به بررسی صفت لالهٔ گوش پرداخته است. از حرف F برای الل غالب و حرف f برای الل مغلوب استفاده شده است. الل غالب مربوط به آزاد بودن لالهٔ گوش و الل مغلوب مربوط به چسبیده بودن آن می‌باشد. هنگامی که به بررسی دودمانه می‌پردازید به این نکته توجه داشته باشید که از ژنتیک مندلی می‌توان برای تعیین ژنوتیپ بسیاری از افراد موجود در دودمانه استفاده کرد.

یکی از کاربردهای مهم دودمانه‌ها، کمک به پیش‌بینی آینده است. زوجی که در نسل دوم شکل ۱۵- ۱۴ هستند را درنظر بگیرید. اگر آنها بخواهند یک فرزند دیگر داشته باشند، چقدر احتمال دارد که این فرزند دارای حالت widow's peak باشد؟ این حالت، مشابه آمیزش مونوهیبریدی نسل F_1 در آزمایش‌های مندل است ($Ww \times Ww$).





(a) صفت غالب (widow's peak). این دودمانه حالتی به‌نام widow's peak را در سه نسل از یک خانواده نشان می‌دهد. توجه کنید که در نسل سوم، دختر دوم wisow's peak نیست، با اینکه هر دو والد وی دارای این صفت بودند. این مطلب از این فرضیه که این صفت (wisow's peak)، غالب می‌باشد حمایت می‌کند. اگر این صفت به‌خاطر یک الل مغلوب بود و هر دو والد فنوتیپ مغلوب داشتند، آن‌گاه تمامی فرزندان می‌بایست فنوتیپ مغلوب را بروز می‌دادند.



(b) صفت مغلوب (لالهٔ گوش چسبیده). توجه کنید، دختر اول در نسل سوم دارای لالهٔ گوش چسبیده است، با اینکه هیچ‌یک از والدین او این صفت را ندارند (لالهٔ گوش آزاد دارند). این الگو با درنظر گرفتن صفت چسبیدگی لالهٔ گوش به‌عنوان یک صفت مغلوب به راحتی قابل توجیه است. اگر ما این صفت را غالب درنظر می‌گرفتیم حداقل یکی از والدین می‌بایست دارای لالهٔ گوش چسبیده می‌بودند.

شکل ۱۵- ۱۴ بررسی دودمانه. *هر یک از این شجره‌نامه‌ها یک صفت را در طول سه نسل از یک خانواده دنبال می‌کنند. همان‌طور که در بررسی شجره‌نامه‌ها می‌بینید، این دو صفت دارای الگوی توارث متفاوتی هستند.*

1- Pedigree

۲ - مترجم: این واژه دارای مترادف دقیقی در فارسی نیست و در حقیقت صفتی را بیان می‌کند که در آن رویش مو به‌صورت حرف V در پیشانی شروع می‌شود همان‌گونه‌که در شکل سمت چپ در شکل ۱۵a- ۱۴ مشاهده می‌کنید. شایان ذکر است که این صفت غالب می‌باشد و افراد با ژنوتیپ‌های WW و Ww، رویش مو را به این صورت در ناحیهٔ پیشانی خود آغاز می‌کنند.

بنابراین احتمال اینکه فرزند، حالت widow's peak را داشته باشد و فنوتیپ غالب را بروز دهد، $\frac{3}{4}$ می‌باشد ($\frac{1}{4}WW + \frac{1}{2}Ww$). چقدر احتمال دارد که این فرزند دارای لالهٔ گوش چسبیده باشد؟ دوباره می‌توانیم با مسأله به‌عنوان یک آمیزش مونوهیبریدی برخورد کنیم ($Ff \times Ff$). اما این بار احتمال اینکه فرزند، فنوتیپ مغلوب را بروز دهد مدنظر ماست (ff)، که این احتمال برابر $\frac{1}{4}$ می‌باشد. درنهایت، احتمال تولد فرزندی که هم دارای حالت widow's peak و هم دارای لالهٔ گوش چسبیده باشد چقدر است؟ با این فرض که ژن مربوط به widow's peak و ژن مربوط به لالهٔ گوش برروی دو کروموزوم مجزا قرار دارند و دو جفت الل به‌صورت مستقل جور می‌شوند، آمیزش ما به‌صورت ($WwFf \times WwFf$) خواهد بود. بنابراین می‌توانیم از قانون ضرب استفاده کنیم: $\frac{3}{16}$ = (احتمال لالهٔ گوش چسبیده) $\frac{1}{4}$ × (احتمال وجود widow's peak) $\frac{3}{4}$.

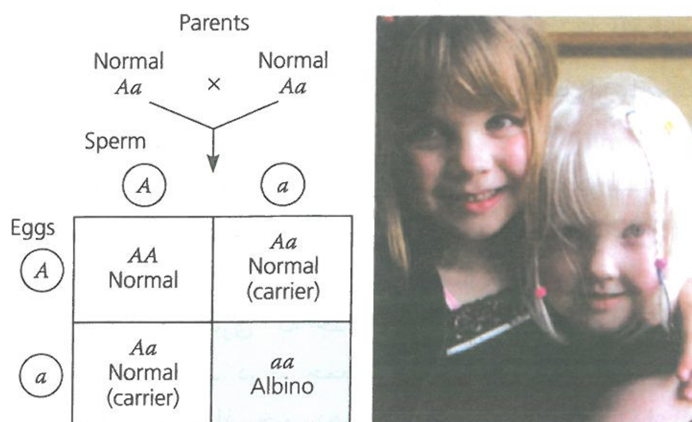
اهمیت دودمانه‌ها وقتی مشخص می‌شود که در صورت سؤال به‌جای صفات بی‌ضرری که در انسان‌ها گوناگون‌اند مثل رُستنگاه مو و یا لالهٔ گوش، الل‌هایی مدنظر قرار بگیرند که ایجاد معلولیت و یا بیماری‌های کشندهٔ وراثتی کنند. در هر حال، برای بررسی اختلالات وراثتی که به سادگی صفات مندلی هستند از تکنیک‌های مشابهی در دودمانه استفاده می‌شود.

اختلالات وراثتی مغلوب

هزاران نوع از اختلالات ژنتیکی به‌صورت صفات سادهٔ مغلوب به ارث می‌رسند. این بیماری‌ها از لحاظ شدت دارای گستره‌ای از حالات تقریباً خفیف مثل زالی (آلبینیسم) [فقدان رنگدانه که موجب افزایش احتمال ایجاد سرطان پوست و ناراحتی‌های بینایی می‌شود] تا حالات کشنده‌ای مثل سیستیک فایبروزیس است.

رفتار الل‌های مغلوب

چگونه می‌توان ایجاد این اختلالات را به حالت مغلوب الل‌ها نسبت داد؟ به یاد آورید که ژن‌ها مسئول رمز کردن پروتئین‌هایی با اعمال خاص هستند. اللی که موجب ایجاد اختلال ژنتیکی می‌شود، یا پروتئین ناقصی می‌سازد و یا اصلاً هیچ پروتئینی رمز نمی‌کند. در مورد آن دسته از اختلالاتی که در گروه مغلوب دسته‌بندی می‌شوند، افراد هتروزیگوس دارای فنوتیپ طبیعی هستند زیرا یک کپی از الل سالم به میزان کافی از آن پروتئین خاص را می‌سازد. بنابراین اختلالات ژنتیکی مغلوب، تنها در افراد



شکل ۱۶-۱۴ آلبینیسم: یک صفت مغلوب. *یکی از دو خواهری که در شکل می‌بینید رنگدانه‌سازی طبیعی دارد، درحالی‌که دیگری زال است. بیشتر هوموزیگوس‌های مغلوب از والدینی به‌دنیا می‌آیند که حامل اختلال هستند ولی خودشان فنوتیپ طبیعی دارند، چیزی که در مربع پانت نشان داده شده است.*

؟ احتمال اینکه خواهر با رنگدانه‌سازی طبیعی، حامل الل زالی باشد چقدر است؟

هوموزیگوس که هریک از الل‌های مغلوب خود را از یکی از والدین به ارث برده‌اند، مشاهده می‌شود. می‌توان ژنوتیپ افراد بیمار را به‌صورت aa و ژنوتیپ افرادی که دارای فنوتیپ طبیعی هستند را به‌صورت AA یا Aa نشان داد. با اینکه هتروزیگوت‌ها از لحاظ فنوتیپی سالم هستند اما می‌توانند الل مغلوب را به فرزندان خود انتقال دهند. بدین‌سان به آنها **ناقل**[1] می‌گویند. **شکل ۱۶-۱۴** آلبینیسم را به‌عنوان مثال نشان می‌دهد.

بیشتر افرادی که دارای اختلالات مغلوب هستند، از پدر و مادری متولد شده‌اند که از لحاظ فنوتیپی سالم‌اند اما ناقل اختلال می‌باشند. آمیزش میان دو فرد ناقل، مشابه آمیزش مونوهیبریدی در نسل F_1 مندل است ($Aa \times Aa$). نسبت ژنوتیپی در بین فرزندان به‌صورت ۱AA:۲Aa:۱aa می‌باشد. بنابراین $\frac{1}{4}$ احتمال دارد هر کودک هر دو الل مغلوب را دریافت کند و اختلال را بروز دهد. با توجه به نسبت ژنوتیپی همچنین درمی‌یابیم که از هر سه فرزندی که فنوتیپ سالم دارند (یک AA به‌همراه دو Aa)، دو تا از آنها هتروزیگوت و ناقل هستند (احتمال $\frac{2}{3}$). افراد هوموزیگوس مغلوب همچنین می‌توانند حاصل آمیزش‌های $Aa \times aa$ و یا $aa \times aa$ باشند. اما اگر اختلال کشنده باشد به‌طوری‌که فرد به سن تولیدمثل نرسد و یا افراد دارای این اختلال عقیم باشند، هیچ فردی با ژنوتیپ

1- Carrier

aa صاحب فرزند نخواهد شد. حتی اگر افراد هوموزیگوس مغلوب توانایی تولیدمثل داشته باشند، باز هم نسبت به افراد هتروزیگوس و ناقل درصد بسیار کمی از جمعیت را تشکیل می‌دهند (علل آن را در فصل ۲۳ بررسی خواهیم کرد).

به‌طورکلی، بیماری‌های ژنتیکی به‌طور یکنواخت در میان جمعیت‌های مختلف توزیع نمی‌شوند. برای مثال، وقوع بیماری تای ـ ساکس که قبلاً در مورد آن در این فصل توضیح دادیم، در میان یهودیان آشکنازی[1] که اجداد آنها در مرکز اروپا زندگی می‌کردند بالاتر است. در آن جمعیت، بیماری تای ـ ساکس در یکی از هر ۳۶۰۰ تولد رخ می‌دهد، که حدود ۱۰۰ برابر بیشتر از غیریهودی‌ها یا یهودی‌های مدیترانه می‌باشد. این توزیع غیرمعمول به تاریخچهٔ ژنتیکی متفاوت مردم جهان در گذشته که پیشرفت تکنولوژی کمتر بوده و درنتیجه جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی (و بنابراین از نظر ژنتیکی) بیشتر جدا بودند برمی‌گردد.

وقتی که یک الل مغلوب، عامل بیماری نادری باشد، احتمال اینکه دو ناقلِ آن الل مضر با یکدیگر ملاقات و ازدواج کنند خیلی کم است. ولی اگر زن و مرد خویشاوند نزدیک باشند، احتمال ایجاد صفات مغلوب به شدت افزایش می‌یابد. این نوع ازدواج‌ها، ازدواج‌های هم‌خون نامیده می‌شوند و در دودمانه با خط‌های دوگانه نشان داده می‌شوند. چون افرادی که از یک دودمان با بیماری شایع هستند، بیشتر امکان دارد که همان الل‌های مغلوب را داشته باشند، احتمال اینکه از ازدواج خویشاوندان نزدیک، بچه‌هایی با صفات مغلوبی شامل صفات خطرناک به‌وجود آید، بیشتر است. این اثر در انواع مختلفی از حیوانات خانگی و باغ وحشی دیده می‌شود.

در مورد اینکه ازدواج‌های هم‌خون چقدر احتمال بیماری‌های وراثتی را بالا می‌برند، در میان متخصصان ژنتیک اختلاف نظر وجود دارد. بعضی از الل‌های خطرناک چنان اثر شدیدی دارند که یک جنین هوموزیگوس خیلی قبل از تولد خودبه‌خود سقط می‌شود. هنوز، بیشتر جوامع و فرهنگ‌ها، قوانینی برای جلوگیری از ازدواج بین خویشاوندان نزدیک دارند. این قوانین احتمالاً به این علت به‌وجود آمده‌اند که در بسیاری از جوامع تولدهای مرده و نقایص تولد، بیشتر در زمانی‌که والدین خویشاوند نزدیک هستند، دیده شده است. عوامل اجتماعی و اقتصادی در به‌وجود آمدن این قوانین علیه ازدواج‌های هم‌خون نقش داشته‌اند.

1- Ashkenazic Jews

سیستیک فایبروزیس

معمول‌ترین بیماری کشندهٔ ژنتیکی در آمریکا، **سیستیک فایبروزیس**[2] است که در نژاد اروپایی از هر ۲۵۰۰ نفر یک نفر مبتلا به این بیماری می‌باشد و در نژادهای دیگر بسیار کمتر اتفاق می‌افتد. در میان مردم اروپا، یک نفر از هر ۲۵ نفر (۴٪) ناقل الل مربوط به این بیماری است. الل طبیعی این ژن مسئول تولید نوع خاصی از پروتئین است که به‌عنوان انتقال‌دهندهٔ یون کلر بین یک‌سری سلول خاص و *مایع خارج‌سلولی* عمل می‌کند. این کانال‌های انتقال‌دهندهٔ کلر در غشای پلاسمایی کودکانی که دو الل مغلوب را برای سیستیک فایبروزیس به ارث برده‌اند یا وجود ندارند یا به‌صورت ناقص می‌باشند. نتیجهٔ این اتفاق، تجمع بیش از حد کلر در مایع خارج‌سلولی است و درنتیجه، موکوسی که سلول‌های خاصی را پوشش می‌دهد، بیشتر و چسبنده‌تر از حد طبیعی می‌شود. این موکوس، پانکراس، ریه‌ها، دستگاه گوارش و سایر اندام‌ها را پر می‌کند و عوارض گوناگونی را به‌دنبال خواهد داشت (پلیوتروپی). این عوارض شامل جذب ضعیف مواد غذایی از روده‌ها، برنشیت حاد، مدفوع بدبو، و عفونت‌های باکتریایی عودکننده می‌باشند.

اگر این بیماری درمان نشود، بیشتر بچه‌های مبتلا به سیستیک فایبروزیس قبل از پنج‌سالگی خواهند مرد. ضربات آرام برروی قفسهٔ صدری به‌منظور باز کردن راه‌های هوایی مسدودشده، مصرف روزانهٔ آنتی‌بیوتیک برای جلوگیری از ایجاد عفونت و سایر اقدامات پیش‌گیرانه می‌تواند طول زندگی فرد بیمار را افزایش دهد. در ایالات متحدهٔ آمریکا بیشتر از نیمی از افراد مبتلا به بیماری توانسته‌اند به سن بالاتر از ۲۰ یا ۳۰ و حتی بیشتر برسند.

گلبول قرمز داسی‌شکل

تکامل شایع‌ترین اختلال در بین افراد نژاد آفریقایی، **گلبول قرمز داسی‌شکل**[3] است، که از هر ۴۰۰ نفر آمریکایی آفریقایی‌تبار یک نفر مبتلا به آن هستند. این بیماری به‌علت تغییر یکی از آمینواسیدها در پروتئین هموگلوبینِ گلبول‌های قرمز خون به‌وجود می‌آید. هنگامی‌که میزان اکسیژن خون بیماران کم می‌شود (برای مثال در ارتفاعات بالا و یا فعالیت‌های شدید فیزیکی)، مولکول‌های هموگلوبین به‌صورت یک عصای بزرگ به دور هم جمع می‌شوند و سبب می‌شوند تا گلبول قرمز شکلی داس‌مانند به‌خود بگیرد (به شکل ۲۱- ۵ مراجعه کنید). ممکن است گلبول‌های داسی‌شکل موجب مسدود شدن برخی از رگ‌های خونی کوچک شوند و

2- Cystic fibrosis
3- Sickle cell disease

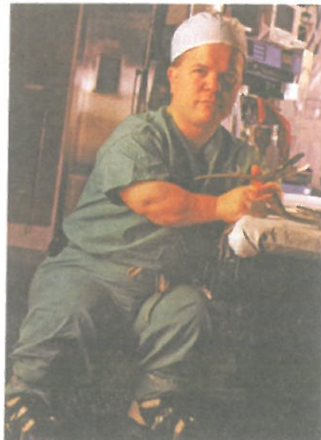
درنتیجه سبب ایجاد برخی دیگر از عوارض گردند، مثل ضعف فیزیکی (ناتوانی جسمی)، درد، آسیب به اندام‌های داخلی، و حتی ممکن است ایجاد فلج کند. به‌خاطر وجود عوارض گوناگون در افرادی که هر دو الل این بیماری را دارند می‌توان نتیجه گرفت که گلبول قرمز داسی‌شکل نیز جزو صفات پلیوتروپی است. تعویض مرتب خون می‌تواند از عوارض تخریب مغزی در کودکان جلوگیری کند و همچنین داروهای جدید می‌توانند سایر مشکلات را درمان بخشند اما بهبودی کامل هیچ‌گاه حاصل نمی‌شود.

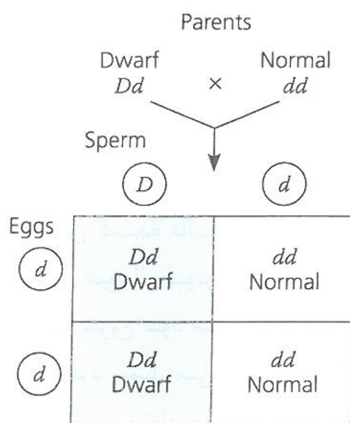
با آنکه برای بروز صفت گلبول قرمز داسی‌شکل به‌طور کامل هر دو الل لازم است اما وجود یک الل نیز می‌تواند تأثیراتی برروی فنوتیپ داشته باشد. بنابراین در سطح جاندار[1]، الل سالم نسبت به الل مربوط به این بیماری، غالب ناقص است. افرادی که برای این صفت هتروزیگوس هستند معمولاً سالم‌اند اما اگر همین افراد برای مدت طولانی در شرایطی باشند که اکسیژن خون آنها کم شود برخی از علایم این بیماری را بروز می‌دهند. در سطح مولکولی[2]، دو الل نسبت به یکدیگر هم‌توانند زیرا هموگلوبین به دو شکل طبیعی و غیرطبیعی (داسی‌شکل) در افراد هتروزیگوس ساخته می‌شود.

از هر ده نفر آمریکایی آفریقایی‌تبار در حدود یک نفر از نظر این بیماری هتروزیگوس هستند که این میزان فراوانی برای اللی که در حالت هوموزیگوس اثرات نامطلوب شدیدی دارد، به‌طور غیرعادی بالا است. یک توجیه برای این مسأله این است که وجود یک الل هموگلوبین داسی‌شکل، میزان و شدت ابتلا به بیماری مالاریا را، به‌ویژه در کودکان، کاهش می‌دهد. انگل مالاریا بخشی از چرخهٔ زندگی خود را در گلبول‌های قرمز سپری می‌کند (به شکل ۱۰- ۲۸ مراجعه کنید). وجود هموگلوبین داسی‌شکل درون گلبول قرمز موجب می‌شود تا میزان انگل درون گلبول کمتر شود و از این‌رو باعث کاهش علایم مالاریا می‌شود. بنابراین در مناطق گرمسیر آفریقا که انگل مالاریا بسیار معمول است الل مربوط به گلبول داسی‌شکل، هم حیاتی و هم مهلک است. شیوع بالای گلبول داسی‌شکل در آمریکایی‌های آفریقایی‌تبار، ردپایی از ریشهٔ آفریقایی آنهاست.

اختلالات وراثتی غالب

گرچه بسیاری از صفات زیان‌آور مربوط به الل‌های مغلوب می‌شوند اما تعدادی از آنها حاصل الل‌های غالب نیز هستند. یک مثال برای این موارد ***آکندروپلازی***[3] است، نوعی کوتولگی که فراوانی آن یک در هر ۲۵,۰۰۰ نفر است. افراد هتروزیگوس فنوتیپ کوتوله دارند (**شکل ۱۷- ۱۴**). بنابراین تمامی افرادی که کوتولگی آکندروپلازیک ندارند ـ یعنی ۹۹/۹۹٪ جمعیت ـ دارای الل مغلوب و به‌صورت هوموزیگوس هستند. همانند صفت داشتن انگشت اضافه در دست یا پا، که کمی پیش‌تر مورد بحث قرار گرفت، در آکندروپلازی نیز الل مغلوب نسبت به الل غالب دارای شیوع بسیار بیشتری است.





◄ **شکل ۱۷- ۱۴ آکندروپلازی: یک صفت غالب.** *دکتر مایکل این (Dr. Michael. C. Ain) آکندروپلازی دارد، نوعی کوتولگی که توسط یک الل غالب ایجاد می‌شود. کار وی به او الهام شده است: او یک متخصص ترمیم نقایص استخوانی حاصل از آکندروپلازی و سایر اختلالات است. الل غالب (D) ممکن است به دلیل ایجاد جهش در تخمک یا اسپرم یک والد به وجود آمده باشد، یا احتمال دارد، همان‌طور که در جدول پانت در مورد پدر مبتلا می‌بینید، از یک والد مبتلا به آکندروپلازی به ارث رسیده باشد.*

الل‌های غالبی که بیماری‌های کشنده ایجاد می‌کنند نسبت به الل‌های مغلوبی که این حالت را دارند شیوع بسیار کمتری دارند. تمامِ چنین الل‌های کشنده‌ای، حاصل جهش (تغییر در مولکول DNA) در اسپرم یا تخمک هستند. احتمال وقوع چنین جهش‌هایی در مورد الل‌های غالب و مغلوب، مساوی است. در هر حال، اگر الل کشندهٔ غالب موجب مرگ فرزندان قبل از بلوغ شود، این الل به نسل‌های بعدی راه پیدا نخواهد کرد. در عوض، الل‌های مغلوب، می‌توانند با مخفی کردن خود در افراد ناقل با ژنوتیپ هتروزیگوس و فنوتیپ سالم، از نسلی به نسل دیگر منتقل شوند. این افراد ناقل، الل مغلوب را منتقل می‌کنند و تنها فرزندان هوموزیگوس مغلوب هستند که دچار بیماری کشنده می‌شوند.

1- Organismal level
2- Molecular level
3- Achondroplasia

بیماری هانتینگتون[1]

توارث تأثیر زیادی بر روی زمان شروع یک بیماری دارد. اگر یک الل غالب کشنده، در سنین نسبتاً بالا موجب مرگ شود، می‌تواند به نسل بعدی منتقل شود. فردی که دارای این الل غالب است، ممکن است قبل از ظهور علائم بیماری، این الل را به فرزندان دختر یا پسر خود منتقل کرده باشد. به عنوان مثال، **بیماری هانتینگتون** توسط یک الل کشندهٔ غالب به‌وجود می‌آید و تا سنین حدود ۳۵ تا ۴۵ سالگی هیچ اثر فنوتیپی خاصی ندارد. هنگامی‌که تخریب بافت عصبی شروع شود مسیر غیرقابل بهبودی را طی می‌کند و موجب مرگ فرد بیمار می‌شود. هر بچه‌ای که از والد دارای بیماری هانتینگتون متولد می‌شود، ۵۰٪ احتمال بیماری دارد، در ایالات متحدهٔ آمریکا از هر ۱۰,۰۰۰ نفر، یک نفر مبتلا به این بیماری ویران‌گر است.

تقریباً تا این اواخر، تشخیص اینکه فرد دارای الل غالب است زمانی مشخص می‌شد که علایم بیماری شروع به ظهور می‌کردند اما اکنون این‌گونه نیست. با بررسی نمونهٔ DNA از خانواده‌هایی که هانتینگتون در آنها شیوع داشته، متخصصان علم ژنتیک توانستند لوکوس الل هانتینگتون را پیدا کنند (نزدیک نوک کروموزوم شمارهٔ ۴). این اطلاعات توانست به ایجاد تستی منجر شود که بتوان با بررسی ژنوم فرد به وجود یا عدم وجود الل هانتینگتون پی‌برد (روشی که به‌وسیلهٔ آن این تست انجام می‌شود در فصل ۲۰ بررسی خواهد شد). در خانواده‌هایی که در آنها سابقهٔ هانتینگتون وجود دارد انجام این تست به یک مسألهٔ غامض تبدیل شده است: تحت چه شرایطی به سود فردی که در حال حاضر سالم است می‌باشد که بداند آیا این بیماری کشنده و تا به امروز غیرقابل درمان را به ارث برده است یا نه؟

اختلالات چندعاملی[2]

بیماری‌های ژنتیکی‌ای که تا اینجا به بررسی آنها پرداختیم به‌عنوان اختلالات سادهٔ مندلی نیز شناخته می‌شوند زیرا در اثر غیرطبیعی بودن یکی یا هر دو الل مربوط به یک لوکوس ژنی ایجاد می‌شوند. بیشتر مردم مستعد ابتلا به بیماری‌هایی هستند که چندعاملی هستند ـ زمینهٔ ژنتیکی به‌همراه یک عامل مهم محیطی در این قضیه نقش دارند. بیماری‌های قلبی، دیابت، سرطان، الکلیسم، برخی از بیماری‌های روانی مثل اسکیزوفرنی[3] و اختلال دو شخصیتی[4] و بسیاری دیگر از بیماری‌ها، چندعاملی هستند. در بسیاری از موارد، زمینهٔ ژنتیکی یک عامل چندژنی است. برای مثال، بسیاری از ژن‌ها در مورد سلامت سیستم قلبی عروقی تأثیرگذار هستند و ممکن است باعث شوند تا برخی از ما نسبت به دیگران بیشتر مستعد سکته‌های قلبی باشیم. اما باید دقت داشته باشیم که سبک زندگی (Lifestyle) عامل تأثیرگذار بسیار مهم در مورد سلامت سیستم قلبی‌عروقی و سایر بیماری‌های چندعاملی است. ورزش، رژیم غذایی سالم، عدم استفاده از دخانیات و توانایی کنترل موقعیت‌های پرتنش، همه و همه می‌توانند میزان بروز بیماری‌های قلبی و برخی از انواع سرطان‌ها را کاهش دهند.

درحال حاضر اطلاعات کمی در مورد نقش ژنتیک در مورد بیشتر بیماری‌های چندعاملی وجود دارد و راه‌کار سازمان سلامت عمومی، آموزش دادن مردم در مورد اهمیت عوامل محیطی و رواج دادن رفتارهای سالم می‌باشد.

آزمایش و مشاورهٔ ژنتیک

زمانی‌که احتمال بالایی از یک اختلال ژنتیکی مشخص وجود داشته باشد می‌توان قبل از به‌وجود آمدن کودک یا در مراحل اولیهٔ بارداری، یک راه‌کار پیش‌گیرانه برای اختلالات سادهٔ مندلی پیش گرفت. بسیاری از بیمارستان‌ها دارای مشاور ژنتیک می‌باشند که به والدینی که نگران تاریخچهٔ خانوادگی یا یک بیماری خاص هستند، مشاوره می‌دهد.

مشاوره بر پایهٔ ژنتیک مندلی و قوانین احتمال

یک زوج فرضی به‌نام جان و کارول را درنظر بگیرید. هر دو برادری دارند که به علت یک بیماری کشندهٔ مغلوب، فوت کرده است. جان و کارول قبل از باردار شدن اولین کودک خود تصمیم گرفته‌اند تا برای تعیین ریسک اینکه کودک با بیماری به دنیا بیاید، مشاوره انجام دهند. با توجه به اطلاعات در مورد برادرهای جان و کارول، ما متوجه می‌شویم که هردو والد جان و کارول، حامل الل مغلوب هستند. بنابراین جان و کارول هر دو حاصل آمیزش $Aa \times Aa$ هستند، که a نشان‌دهندهٔ الل مغلوب ایجادکنندهٔ بیماری می‌باشد. ما همچنین می‌دانیم که جان و کارول هوموزیگوت مغلوب نیستند چون مبتلا به بیماری نمی‌باشند. بنابراین ژنوتیپ آنها AA یا Aa می‌باشد.

با توجه به اینکه نسبت بچه‌های حاصل از لقاح $Aa \times Aa$ به‌صورت $1AA{:}2Aa{:}1aa$ می‌باشد، جان و کارول $\frac{2}{3}$ شانس حامل

1- Huntingtons's disease
2- Multifactorial disorders
3- Schizophrenia
4- Biopolar disorder

بودن (Aa) دارند. با توجه به قوانین ضرب، احتمال اینکه کودک اول بیمار باشد $\frac{1}{9}$ می‌باشد. به این صورت که، احتمال اینکه جان حامل باشد ($\frac{2}{3}$)× احتمال اینکه کارول حامل باشد ($\frac{2}{3}$)× احتمال ایجاد کودک بیمار از دو فرد ناقل ($\frac{1}{4}$) که مساوی $\frac{1}{9}$ می‌شود ($\frac{2}{3}\times\frac{2}{3}\times\frac{1}{4}=\frac{1}{9}$). فرض کنید که جان و کارول تصمیم به بچه‌دار شدن بگیرند، $\frac{8}{9}$ احتمال دارد که کودک آنها سالم باشد. با این وجود، اگر کودک آنها بیمار به دنیا بیاید ما متوجه می‌شویم که جان و کارول حتماً هر دو حامل (ژنوتیپ Aa) هستند. حال اگر جان و کارول هر دو حامل باشند احتمال اینکه هر یک از کودکان بعدی این زوج بیمار باشند، $\frac{1}{4}$ است.

هنگامی‌که ما از قوانین مندل برای پیش‌بینی نتایج یک ازدواج استفاده می‌کنیم، مهم است به‌یاد داشته باشیم که هر کودک تظاهر جداگانه‌ای، مستقل از ژنوتیپ خواهرها و برادرهایش نشان می‌دهد. فرض کنید جان و کارول سه کودک دیگر هم با بیماری داشته باشند. فقط $\frac{1}{64}=(\frac{1}{4}\times\frac{1}{4}\times\frac{1}{4})$احتمال دارد که چنین چیزی اتفاق بیافتد. با وجود چنین بداقبالی هنوز احتمال اینکه کودک بعدی این زوج بیمار باشد، همان $\frac{1}{4}$ باقی می‌ماند.

آزمایش‌هایی برای شناسایی ناقل‌ها

با توجه به اینکه بیشتر کودکان با بیماری‌های مغلوب از والدینی با فنوتیپ طبیعی به‌وجود می‌آیند، کلید تعیین احتمال قطعی بیماری ژنتیکی، مشخص کردن هتروزیگوس بودن یا نبودن پدر و مادر است. برای تعداد فزاینده‌ای از بیماری‌های وراثتی، امروزه تست‌هایی وجود دارند که می‌توانند افراد هوموزیگوس غالب را از هتروزیگوس تشخیص دهند (**شکل ۱۸-۱۴**) . در حال حاضر تست‌هایی برای تشخیص الل‌های بیماری تای ــ ساکس، کم‌خونی داسی‌شکل و شایع‌ترین شکل بیماری سیستیک فایبروزیس موجود است.

این تست‌ها به افرادی که سابقهٔ خانوادگی اختلالات ژنتیکی را دارند، این امکان را می‌دهند تا در مورد بچه‌دار شدن، تصمیمات آگاهانه بگیرند. ولی این روش‌های جدید غربال‌گری ژنتیکی مشکلاتی هم دارد. اگر این اطلاعات محرمانه به بیرون درز پیدا کنند، آیا افراد ناقل مشکل پیدا خواهند کرد؟ آیا از داشتن بیمهٔ عمر یا سلامت، با وجودی‌که خودشان سالم هستند منع می‌شوند؟ آیا کارفرماها کلمهٔ ناقل را با بیماری مساوی فرض خواهند کرد؟ و آیا امکانات مشاورهٔ کافی برای این تعداد زیاد از افراد که متوجه نتایج تست خود شده‌اند وجود دارد؟ پیشرفت‌های اخیر در بیوتکنولوژی امکان رنج کمتر را برای انسان فراهم می‌کنند البته زمانی‌که سؤالات اساسی اخلاقی در این زمینه پاسخ داده شوند.

◀ شکل ۱۸-۱۴
آزمایش ژنتیکی

از سال ۲۰۰۳ که توالی‌یابی ژنوم انسان کامل شد، حقیقتاً تعداد و انواع آزمایش‌های ژنتیکی بر پایهٔ DNA، بسیار افزایش یافته است. به طوری که از سال ۲۰۱۰، آزمایش ژنتیکی برای بیش از ۲،۰۰۰ الل متفاوت ایجادکنندهٔ بیماری در دسترس است.



چرا این موضوع اهمیت دارد: *برای والدین آینده‌ای که در تاریخچهٔ خانوادگی‌شان یک اختلال مغلوب یا غالب دیررس دارند، تصمیم‌گیری در مورد اینکه بچه‌دار شوند یا نه، می‌تواند مشکل باشد. آزمایش ژنتیکی برخی از این شک و تردیدها را برطرف کرده و موجب پیش‌بینی بهتر این احتمالات و خطرات می‌شود.*

مطالعهٔ بیشتر:

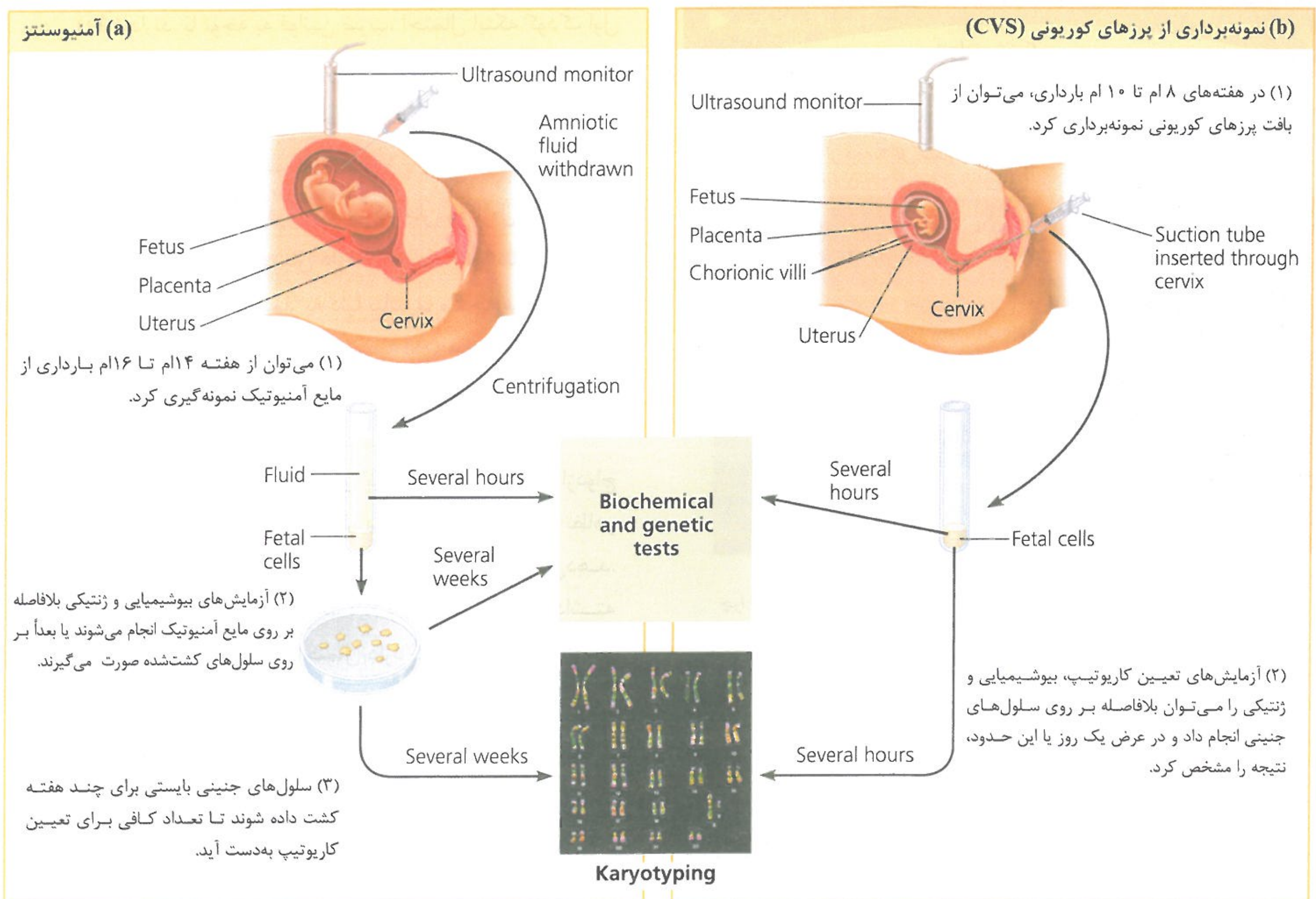
Designing rules for designer babies, *Scientific American* 300:29(2009).

چه می‌شد اگر؟ ***اگر آزمایش ژنتیکی یک الل مغلوب مرتبط با یک اختلال، برای یک والد مثبت باشد و برای والد دیگر منفی، چقدر احتمال دارد که بچهٔ اول آنها دارای این اختلال باشد؟ بچهٔ اول آنها ناقل باشد؟ اگر فرزند اول آنها ناقل باشد، فرزند دوم نیز ناقل باشد؟***

آزمایش‌های مربوط به جنین

درنظر بگیرید که زوجی از این که هر دو ناقل الل بیماری تای ـ ساکس هستند اطلاع داشته باشند ولی همچنان تصمیم به بچه‌دار شدن بگیرند. آزمایش‌هایی وجود دارند که در ترکیب با روشی به‌نام «**آمنیوسنتز**»[1] از هفتهٔ ۱۴ تا ۱۶ بارداری به بعد می‌توانند تعیین کنند که جنین مبتلا به بیماری تای ــ ساکس هست یا نه. (**شکل ۱۹a-۱۴**). برای انجام این عمل، پزشک یک سرنگ را وارد رحم می‌کند و ۱۰ mL از مایع آمنیوتیک (مایعی که اطراف جنین است) را می‌گیرد. بعضی از بیماری‌های ژنتیکی ازطریق وجود برخی از مواد شیمیایی خاص در خودِ مایع آمنیوتیک تشخیص داده می‌شوند. آزمایش‌های مربوط به سایر بیماری‌ها،

1- Amniocentesis



▶ **شکل ۱۹-۱۴ آزمایش کردن جنین برای اختلالات ژنتیکی.** *آزمایش‌های بیوشیمیایی ممکن است موادی را شناسایی کنند که با اختلالات خاصی ارتباط داشته باشند، و آزمایش ژنتیکی می‌تواند بسیاری از ناهنجاری‌های ژنتیکی را شناسایی نماید. تعیین کاریوتیپ، طبیعی بودن کروموزوم‌های جنین را از نظر تعداد و ظاهر مشخص می‌کند.*

شامل بیماری تای ـ ساکس، روی سلول‌هایی که درون مایع آمنیوتیک وجود دارند و از بدن جنین جدا شده‌اند، انجام می‌شوند. به‌علاوه، این سلول‌ها که کشت داده می‌شوند می‌توانند برای تهیهٔ کاریوتیپ و شناسایی نقایص کروموزومی خاص به‌کار روند (شکل ۳-۱۳ را ببینید).

در یک روش دیگر به‌نام «**نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی**»[1]، یا CVS، پزشک یک لولهٔ باریک را از طریق گردن رحم وارد جفت می‌کند و یک نمونهٔ کوچک از آن می‌گیرد. جفت، اندامی است که مواد غذایی و مواد زائد جنین را بین جنین و مادر انتقال می‌دهد (**شکل 19b-۱۴**). سلول‌های پرز کوریونی، ژنوتیپ مشابه با جنین دارند. این سلول‌ها به اندازهٔ کافی و به سرعت تقسیم می‌شوند تا بتوان سریعاً از آنها کاریوتیپ تهیه کرد. این آنالیز سریع نسبت به آمنیوسنتز ارجحیت دارد زیرا در آمنیوسنتز سلول‌ها باید برای چندین هفته کشت داده شوند تا بتوان از آنها کاریوتیپ تهیه کرد. یک مزیت دیگر CVS این است که می‌توان آن را از هفتهٔ ۱۰-۸ حاملگی به بعد انجام داد.

به‌تازگی دانشمندان روش‌هایی را ابداع کرده‌اند که با استفاده از آنها می‌توان سلول‌هایی از جنین را که وارد خون مادر شده‌اند به‌دست آورد. با وجود اینکه این سلول‌ها تعداد خیلی کمی دارند می‌توانند کشت داده شوند و سپس مورد آزمایش قرار گیرند.

روش‌های تصویربرداری به پزشک امکان می‌دهند تا جنین را از نظر نقص‌های آناتومیک بزرگ به‌طور مستقیم بررسی کند. در روش

1- Chorionic villus sampling (CVS)

«اولتراسوند»[1]، امواج صوتی در یک فرایند غیرتهاجمی ساده برای تولید یک تصویر از جنین به‌کار می‌روند. در «فتوسکوپی»[2]، یک سوزن نازک به‌همراه یک دوربین و یک فیبر نوری (برای انتقال نور) وارد رحم می‌شود.

اولتراسوند و جداسازی سلول‌های جنینی یا DNA از خون مادر هیچ خطر شناخته‌شده‌ای برای مادر یا جنین ندارد، درحالی‌که سایر روش‌ها می‌توانند عوارض را در درصد کمی از موارد ایجاد کنند. قبلاً آمنیوسنتز یا CVS فقط برای زنان با سن بالاتر از ۳۵ سال به‌صورت گسترده انجام می‌شد چرا که این زنان احتمال بیشتری برای به‌دنیا آوردن کودک با سندرم داون دارند. در سال ۲۰۰۷ بررسی دربارهٔ خطرات و فواید این تست‌ها باعث تغییر روش‌های قبلی شد و اکنون این تست‌ها برای تمام زنان حامله در دسترس هستند. اگر جنین یک نارسایی شدید داشته باشد، والدین باید این تصمیم مشکل را بگیرند که حاملگی را خاتمه دهند یا خود را برای نگهداری از یک کودک با نارسایی ژنتیکی آماده کنند.

غربالگری کودکان تازه متولدشده

بعضی از اختلالات ژنتیکی را می‌توان با آزمایش‌های ساده‌ای که اکنون به‌صورت روتین در اکثر بیمارستان‌های آمریکا انجام می‌شوند، تشخیص داد. یک برنامهٔ غربال‌گری معمول برای فنیل‌کتونوری[3] (PKU)، یک اختلال وراثتی مغلوب که در یکی از هر ۱۰۰۰۰ یا ۱۵۰۰۰ تولد در آمریکا رخ می‌دهد، انجام می‌شود. کودکان دارای این بیماری نمی‌توانند آمینواسید فنیل‌آلانین را به‌خوبی متابولیزه کنند. این ترکیب و محصول جانبی آن، فنیل‌پیرووات، می‌توانند تا مقادیر سمی در خون تجمع پیدا کنند و باعث عقب‌ماندگی ذهنی شوند. اگر این اختلال در کودک تازه متولدشده تشخیص داده شود با یک رژیم خاص با فنیل‌آلانین کم، رشد طبیعی کودک میسر می‌شود و از عقب‌افتادگی جلوگیری به‌عمل می‌آید. متأسفانه تعداد کمی از بیماری‌های ژنتیکی در حال حاضر قابل درمان‌اند.

غربال‌گری نوزادان و جنین‌ها برای بیماری‌های وراثتی شدید، آزمایش‌های مربوط به تشخیص ناقل‌ها و مشاورهٔ ژنتیک، همه برپایهٔ الگوی مندلی وراثت استوارند. ما ایدهٔ ژنی بودن این عوامل قابل وراثت که برپایهٔ قوانین سادهٔ احتمال منتقل می‌شوند را مدیون آزمایش‌های کَمّی گرگور مندل هستیم. اهمیت کشف مندل توسط متخصصان بیولوژی زیادی تا اوایل قرن ۲۰ بازنگری شد، یعنی چندین دهه بعد از منتشر شدن کشفیات وی. در فصل بعدی، شما خواهید آموخت که چگونه قوانین مندل ریشهٔ فیزیکی در رفتار کروموزوم‌ها در طول چرخهٔ زندگی جنسی دارند. و اینکه چگونه مندلیسم و تئوری کروموزومی وراثت باعث پیشرفت در ژنتیک شدند.

آزمون مبحث ۴-۱۴

۱. بت و تام هر دو خواهر یا برادری با بیماری سیستیک فایبروزیس دارند ولی نه تام، نه بت و نه هیچ‌یک از والدین‌شان بیمار نیستند. اگر این زوج بچه‌دار شوند، احتمال اینکه کودک بیماری سیستیک فایبروزیس را داشته باشد محاسبه کنید. اگر آزمایشی مشخص کند که تام یک ناقل است ولی بت ناقل نیست، این احتمال چه‌قدر خواهد بود؟

۲. **ارتباط دهید.** شکل‌های ۱۶-۵ ، ۲۰-۵ و ۲۱-۵ را مطالعه کنید. توضیح دهید چگونه تغییر یک آمینواسید در هموگلوبین، موجب تجمع هموگلوبین به صورت رشته‌های طویل می‌شود.

۳. جان با شش انگشت در هر پا متولد شد، که یک حالت غالب به‌نام پلی‌داکتیلی یا چندانگشتی است. دو تا از خواهر و برادرهایش و مادرش، ولی نه پدرش، نیز دارای انگشتان اضافی هستند. ژنوتیپ جان برای صفت تعداد انگشتان چیست؟ پاسخ خود را توضیح دهید. از D و d برای نشان دادن الل‌های این صفت استفاده کنید.

۴. **ارتباط دهید.** در جدول ۱-۱۴، نسبت فنوتیپی صفت غالب و مغلوب در نسل F_2 برای آمیزش مونوهیبرید شامل رنگ گل، را بیان کنید. سپس نسبت فنوتیپی را برای فرزندان زوج نسل دوم در شکل ۱۵b-۱۴ تعیین کنید. چه چیزی باعث تفاوت این دو نسبت می‌شود؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Ultrasound
2- Fetoscopy
3- Phenylketonuria

13 مرور فصل

خلاصه مفاهیم کلیدی

۱۴-۱ مندل با داشتن رویکردی علمی توانست دو قانون وراثت را کشف کند

- در دهۀ ۱۸۶۰، گرگور مندل تئوری وراثت را براساس آزمایش‌هایش روی نخودفرنگی‌ها شکل داد که بیان می‌کرد والدین ژن‌های مجزایی را به فرزندان انتقال می‌دهند.

- **قانون تفکیک** بیان می‌کند که ژن‌ها شکل‌های مختلفی به‌نام **الل** دارند. در یک موجود دیپلوئید، دو الل یک ژن هنگام میوز و تشکیل گامت از هم جدا می‌شوند. هر اسپرم یا تخمک فقط یک الل از هر جفت را حمل می‌کند. این قانون نسبت ۳:۱ فنوتیپ‌های F_2 را وقتی که مونوهیبریدها خودلقاحی می‌کنند توضیح می‌دهد. هر موجود زنده یک الل از هر والد خود به ارث می‌برد. در **هتروزیگوت‌ها** دو الل متفاوتند و بیان یکی **(الل غالب)** اثر فنوتیپی دیگری **(الل مغلوب)** را می‌پوشاند. **هوموزیگوس‌ها** الل‌های یکسانی برای یک ژن خاص دارند.

- **قانون جورشدن مستقل** بیان می‌کند که هر جفت الل (برای یک ژن) مستقل از جفت الل‌های ژن‌های دیگر، به درون گامت‌ها توزیع می‌شوند. در یک آمیزش بین **دی‌هیبریدها** (افراد هتروزیگوس برای دو ژن)، زاده‌ها چهار فنوتیپ با نسبت ۹:۳:۳:۱ دارند.

؟ زمانی که مندل گیاهان نخودفرنگی با رنگ گل ارغوانی و سفید خالص را با یکدیگر آمیزش داد، صفت گل سفید در نسل F_1 محو شد، اما در نسل F_2 دوباره ظاهر شد. با استفاده از اصطلاحات ژنتیکی توضیح دهید که چرا این اتفاق رخ داد.

۱۴-۲ وراثت مندلی تابع قوانین احتمالات است

- **قانون ضرب** بیان می‌کند که احتمال رخ دادن همزمان دو یا چند رویداد برابر با حاصل‌ضرب احتمال رخ دادن رویدادهای مستقل در یکدیگر است. **قانون جمع** بیان می‌کند که احتمال رخ دادن رویدادی که در دو یا تعداد بیشتری از حالات مستقل اتفاق می‌افتد برابر با مجموع این احتمالات است.

- با استفاده از قوانین احتمالات می‌توان مسایل ژنتیکی پیچیده را حل کرد. آمیزش دی‌هیبریدی یا چندصفتی برابر با دو یا تعداد بیشتری آمیزش مونوهیبریدی است که در یک زمان رخ دهند. در محاسبۀ احتمال ژنوتیپ‌های مختلف فرزندان در چنین آمیزش‌هایی، احتمال هر جفت جداگانه حساب می‌شود و سپس این احتمالات در هم ضرب می‌شوند.

ترسیم کنید. جدول پانت سمت راست شکل ۸-۱۴ را به صورت دو جدول پانت مونوهیبرید کوچک‌تر ترسیم کنید، برای هر ژن یک جدول و زیر هر جدول کسر هر فنوتیپ حاصله را بنویسید. با استفاده از قانون ضرب، کسر کلی هر فنوتیپ دی‌هیبرید احتمالی را محاسبه کنید. نسبت فنوتیپی چند است؟

۱۴-۳

- **الگوهای وراثتی، اغلب پیچیده‌تر از آن هستند که توسط ژنتیک سادۀ مندلی قابل پیش‌بینی باشند**

مثال	تعریف	رابطۀ بین‌الل‌های یک ژن
PP Pp	فنوتیپ هتروزیگوس مشابه با هوموزیگوس غالب است	غالبیت کامل یک الل
C^RC^R C^RC^W C^WC^W	فنوتیپ هتروزیگوس چیزی بین فنوتیپ هر دو هوموزیگوس است	غالبیت ناقص هر دو الل
I^AI^B	در هتروزیگوت‌ها، هر دو فنوتیپ بیان می‌شوند	هم‌توانی
الل‌های گروه خونی ABO I^A، I^B، i	در تمام جمعیت، بعضی ژن‌ها بیشتر از دو الل دارند	چنداللی
بیماری سلول داسی	یک ژن قادر است چند صفت فنوتیپی را تحت تأثیر قرار دهد	پلیوتروپی

- گسترش ژنتیک مندلی برای دو یا چند ژن:

مثال	تعریف	رابطۀ بین دو یا چند ژن
$BbEe$ × $BbEe$ BE, bE, Be, be 9 : 3 : 4	یک ژن، بیان ژن دیگری را تحت تأثیر قرار می‌دهد	اپی‌ستازی
$AaBbCc$ × $AaBbCc$	یک صفت فنوتیپی واحد، با دو یا چند ژن کنترل می‌شود	وراثت چندژنی

○ بیان یک ژنوتیپ می‌تواند تحت اثر محیط قرار بگیرد. طیف فنوتیپی یک ژنوتیپ خاص، **گسترهٔ واکنش** آن نامیده می‌شود. صفات چندژنی نیز که تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند صفات **چندعاملی** نامیده می‌شوند.

○ فنوتیپ کلی یک موجود، شامل شکل ظاهری، آناتومی داخلی، فیزیولوژی، و رفتار، ژنوتیپ کلی و تاریخچهٔ محیطی خاص‌اش را منعکس می‌کند. حتی در الگوهای وراثتی پیچیده‌تر، اصول تفکیک و جورشدن مستقل مندل همچنان به‌کار می‌روند.



الگوی توارث الل‌های گروه خونی ABO، کدام‌یک از موارد زیر را نشان می‌دهند: غالبیت کامل، غالبیت ناقص، هم‌توانی، چند اللی، پلیوتروپی، اپی‌ستازی و / یا وراثت چندژنی؟ برای هریک از پاسخ‌هایتان، چگونگی توارث را توضیح دهید.

۱۴-۴ بسیاری از صفات انسان از الگوهای وراثتی مندل پیروی می‌کنند

○ از تجزیه و تحلیل **شجره‌نامهٔ** خانوادگی برای حدس‌زدن ژنوتیپ‌های محتمل افراد و پیش‌بینی ژنوتیپ‌های فرزندان استفاده می‌شود. پیش‌بینی‌ها، احتمالات آماری هستند و قطعی نمی‌باشند.

○ بسیاری از اختلالات ژنتیکی به‌صورت صفات مغلوب به ارث می‌رسند. بیشتر بیماران (هوموزیگوس مغلوب)، فرزندانِ **ناقل‌هایی** هتروزیگوس با فنوتیپ طبیعی هستند.

○ الل‌های کشندهٔ غالب، اگر فرد قبل از رسیدن به سن تولیدمثل فوت کند، از جمعیت حذف می‌شوند. الل‌های غالب غیرکشنده و آنهایی که کشنده‌اند ولی نسبتاً دیر بروز می‌یابند با الگوی مندلی به ارث می‌رسند.

○ بسیاری از بیماری‌های انسانی، چندعاملی هستند یعنی هر دو جزء ژنتیکی و محیطی را دارند و از الگوهای سادهٔ وراثت مندلی پیروی نمی‌کنند.

○ با استفاده از سابقهٔ خانوادگی، مشاوران ژنتیک به زوجین کمک می‌کنند تا احتمال اینکه فرزندشان با بیماری ژنتیکی به‌دنیا بیاید را بررسی کنند. **آمنیوسنتز** و **نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی** مشخص می‌کنند که یک بیماری ژنتیکی مورد شک در جنین وجود دارد یا نه. بقیهٔ تست‌های ژنتیکی بعد از تولد انجام می‌شوند.



یک زوج هر دو می‌دانند که ناقل سیستیک فایبروزیس هستند. هیچ‌یک از سه فرزند آنها دارای سیستیک فایبروزیس نیستند، اما ممکن است ناقل باشند. آنها مایلند فرزند چهارمی داشته باشند. اما نگران این موضوع هستند که فرزند چهارم به احتمال زیاد دارای این بیماری باشد، زیرا سه فرزند اول بیمار نیستند. شما به این زوج چه می‌گویید؟ اگر آزمایش‌های ژنتیکی نشان می‌داد که سه فرزند اول ناقل هستند، آیا مقدار بیشتری از شک آنها برطرف می‌شد؟

نکاتی برای حل سؤالات ژنتیک

۱- برای الل‌ها علائم اختصاری بنویسید. وقتی از یک حرف استفاده می‌کنید، الل غالب را با حرف بزرگ و الل مغلوب را با حرف کوچک نمایش دهید.

۲- ژنوتیپ‌های احتمالی را که برای یک فنوتیپ امکان دارند بنویسید.

a. اگر فنوتیپ مربوط به حالت غالب است (برای مثال گل‌های ارغوانی)، ژنوتیپ می‌تواند هوموزیگوس غالب یا هتروزیگوس باشد (PP یا Pp در این مثال).

b. اگر فنوتیپ مربوط به حالت مغلوب باشد، ژنوتیپ باید هوموزیگوس مغلوب باشد (برای مثال pp).

c. اگر سؤال از کلمهٔ «خالص» استفاده کند ژنوتیپ هوموزیگوس است.

۳- تعیین کنید سؤال چه می‌خواهد. اگر سؤال، آمیزش را مورد سؤال قرار داده است، آن را به‌صورت ژنوتیپ × ژنوتیپ بنویسید و از الل‌هایی که مدنظر دارید استفاده کنید.

۴- برای به‌دست آوردن نتیجهٔ یک آمیزش از مربع پانت استفاده کنید.

a. گامت‌های یک والد را در بالا و گامت‌های والد دیگر را در سمت چپ قرار دهید. برای تعیین الل‌های هر گامت از یک روش سیستماتیک برای فهرست کردن تمام احتمالات استفاده کنید (به‌یاد داشته باشید هر گامت یک الل از هر ژن دارد). توجه کنید که 2^n نوع گامت می‌تواند وجود داشته باشد که n تعداد لوکوس‌های ژنی هتروزیگوس است. برای مثال فردی با ژنوتیپ $AaBbCc$ می‌تواند $2^3=8$ نوع گامت تولید کند. ژنوتیپ گامت‌ها را در دایره‌هایی بالای ستون‌ها و در سمت چپ ردیف‌ها بنویسید.

b. داخل مربع پانت را به‌صورتی‌که هر اسپرم احتمالی با هر تخمک احتمالی لقاح انجام دهد پر کنید و تمام فرزندان ممکن را مشخص نمایید. در آمیزش $AaBbCc \times AaBbCc$، مربع پانت ۸ ردیف و ۸ ستون خواهد داشت. بنابراین ۶۴ فرزند متفاوت می‌توانند ایجاد شوند. شما ژنوتیپ هر کدام و بنابراین فنوتیپ آنها را خواهید دانست. تعداد ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها را بشمارید تا نسبت ژنوتیپی و فنوتیپی را به‌دست آورید.

۵- اگر مربع پانت خیلی بزرگ باشد شما می‌توانید از قوانین احتمالات استفاده کنید (برای مثال سؤال ۷ ژنتیک را ببینید). می‌توانید هر ژن را جداگانه درنظر بگیرید.

۶- اگر سؤال نسبت فنوتیپی فرزندان را ارائه می‌دهد ولی ژنوتیپ والدین را در آن آمیزش فرضی مشخص نمی‌کند، فنوتیپ‌ها به شما کمک می‌کنند تا ژنوتیپ نامعلوم والدین را استخراج کنید.

a. برای مثال اگر $\frac{1}{2}$ فرزندان، فنوتیپ مغلوب و $\frac{1}{2}$ آنها دارای فنوتیپ غالبند، شما خواهید دانست که آمیزش بین هتروزیگوت و هوموزیگوس مغلوب بوده است.

b. اگر نسبت ۳ به ۱ باشد، آمیزش بین دو هتروزیگوت است.

c. اگر دو ژن دخالت دارند و شما نسبت ۹:۳:۳:۱ را در زاده‌ها دارید خواهید فهمید که هر دو والد برای هر دو ژن هتروزیگوس بوده‌اند. دقت کنید که تعداد گزارش‌شده دقیقاً برابر با نسبت‌های احتمالی نیستند. برای مثال اگر ۱۳ فرزند با حالت غالب و ۱۱ فرزند با حالت مغلوب وجود داشته باشند نسبت را یک غالب به یک مغلوب درنظر بگیرید.

۷- برای سؤالات دودمانه از شکل ۱۵- ۱۴ و نکات زیر استفاده کنید تا تعیین کنید که چه نوع صفتی دخیل است.

a. اگر والدین بدون یک صفت معین، فرزندی با آن صفت داشتند، صفت باید مغلوب باشد و هر دو والد ناقل آن صفت هستند.

b. اگر صفت در تمام نسل‌ها دیده می‌شود به احتمال قوی غالب است.

c. اگر هر دو والد صفتی را دارند، برای آنکه صفت، مغلوب باشد، تمام فرزندان باید آن صفت را نشان دهند.

d. برای تعیین ژنوتیپ یک فرد مشخص در یک شجره‌نامه، اول ژنوتیپ‌های همهٔ افراد خانواده را تا جایی‌که می‌توانید تعیین کنید. حتی اگر بعضی از ژنوتیپ‌ها ناکامل هستند مواردی را که می‌دانید بنویسید. برای مثال، اگر فردی فنوتیپ غالب دارد ژنوتیپ باید *AA* یا *Aa* باشد. می‌توانید آن را به‌صورت ـ A بنویسید. احتمالات مختلف را امتحان کنید تا ببینید با کدام‌یک از نتایج مطابقت دارند. از قوانین احتمالات استفاده کنید تا احتمال اینکه هر ژنوتیپ ممکن، ژنوتیپ درست باشد را محاسبه کنید.

خود را بیازمایید

۱- هر اصطلاح را در سمت چپ به توضیح سمت راست وصل کنید.

توضیح	اصطلاح
a. تأثیری روی فنوتیپ در یک هتروزیگوت ندارد	ژن
b. نوعی از یک صفت	الل
c. دارای دو الل مشابه برای یک ژن	صفت
d. آمیزشی بین افراد هتروزیگوس برای یک صفت منفرد	حالت
e. یک نسخهٔ جایگزین از یک ژن	الل غالب
f. دارای دو الل مختلف برای یک ژن	الل مغلوب
g. یک ویژگی وراثتی که در بین افراد متفاوت است	ژنوتیپ
h. ظاهر یا صفات قابل رؤیت یک موجود	فنوتیپ
i. آمیزش بین فردی با ژنوتیپ نامعلوم و یک فرد هوموزیگوس مغلوب	هتروزیگوس
	هوموزیگوس
j. فنوتیپ را در یک هتروزیگوت مشخص می‌کند	آمیزش آزمون
k. ساختار ژنتیکی یک فرد	آزمون مونوهیبریدی
l. یک واحد وراثتی که یک صفت را تعیین می‌کند و می‌تواند به اشکال مختلف وجود داشته باشد	

۲- **رسم کنید.** دو گیاه نخودفرنگی که برای صفات رنگ غلاف و شکل غلاف هتروزیگوس‌اند، آمیزش داده شده‌اند. یک مربع پانت برای تعیین نسبت فنوتیپی فرزندان رسم کنید.

۳- در بعضی گیاهان، وقتی گیاهی خالص با گل‌های قرمز با گیاهی با گل‌های سفید آمیزش داده می‌شود فقط گل‌های صورتی ایجاد می‌شوند:



$$C^R C^R \times C^W C^W \rightarrow C^R C^W$$

(قرمز) (سفید) (صورتی)

اگر موقعیت گل‌مانند نخودفرنگی‌ها به ارث برسد، نسبت ژنوتیپی و فنوتیپی در نسل F_1 در آمیزش زیر چگونه است؟

سفید ـ انتهایی × قرمز ـ جانبی (خالص)

نسبت‌ها در نسل F_2 چگونه خواهند بود؟

۴- مردی با گروه خونی A با زنی با گروه خونی B ازدواج می‌کند. فرزند آنها دارای گروه خونی O است. ژنوتیپ این سه نفر چیست؟ برای فرزندان بعدی این ازدواج، چه فنوتیپی با چه فراوانی انتظار دارید؟

۵- مردی دارای شش انگشت در هر دست و شش انگشت در هر پا است. همسر و دختر آنها تعداد انگشت طبیعی دارد. به یاد داشته باشید که انگشتان اضافی یک صفت غالب است. انتظار می‌رود چه کسری از فرزندان این زوج دارای انگشتان اضافی باشند؟

۶- **رسم کنید.** گیاه نخودفرنگی هتروزیگوس برای غلاف متورم (*Ii*) با گیاه هوموزیگوس برای غلاف چروکیده (*ii*) آمیزش داده می‌شود. جدول پانت این آمیزش را رسم کنید. فرض کنید که گرده متعلق به گیاه *ii* باشد.

۷- موقعیت گل، طول ساقه، و شکل دانه، سه صفتی هستند که مندل مطالعه کرد؛ که هر کدام با یک ژن دارای الل‌های غالب و مغلوب، مستقل از هم کنترل می‌شوند.

صفت	غالب	مغلوب
موقعیت گل	جانبی (*A*)	انتهایی (*a*)
طول ساقه	بلند (*T*)	کوتاه (*t*)
شکل دانه	گرد (*R*)	چروکیده (*r*)

اگر گیاهی که برای هر سه صفت هتروزیگوس است خودلقاحی کند، انتظار دارید چه نسبتی از فرزندان مانند زیر باشند؟

a. هوموزیگوس برای هر سه حالت غالب

b. هوموزیگوس برای هر سه حالت مغلوب

c. هتروزیگوس برای هر سه صفت

d. هوموزیگوس برای گل جانبی و بلند، هتروزیگوس برای شکل دانه

۸- یک خوک سیاه با یک خوک آلبینو آمیزش می‌کند و ۱۲ بچه تولید می‌شود. وقتی خوک زال با خوک سیاه بعدی آمیزش می‌کند، ۷ خوک سیاه و ۵ خوک زال ایجاد می‌شوند. بهترین توضیح برای این وضعیت ژنتیکی چیست؟ ژنوتیپ والدین، گامت‌ها و فرزندان را بنویسید.

۹- در یک نوع گیاه، حالت یک‌غلافی (P) به حالت سه‌غلافی (p) و برگ معمولی (L) به برگ چروکیده (l) غالب می‌باشد. هر دو صفت به‌صورت مستقل انتقال می‌یابند. ژنوتیپ والدین را برای آمیزش‌هایی که فرزندان زیر را تولید می‌نمایند مشخص کنید.

a. ۳۱۸ تک غلافی و برگ معمولی ـ ۹۸ تک غلافی و برگ چروکیده

b. ۳۲۳ سه غلافی و برگ معمولی ـ ۱۰۶ سه غلافی و برگ چروکیده

c. ۴۰۱ تک غلافی و برگ معمولی

d. ۱۵۰ تک غلافی و برگ معمولی ـ ۱۴۷ تک غلافی و برگ چروکیده ـ ۵۱ سه غلافی و برگ معمولی ـ ۴۸ سه غلافی و برگ چروکیده

e. ۲۲۳ تک‌غلافی و برگ معمولی ـ ۷۲ تک‌غلافی و برگ چروکیده ـ ۷۶ سه غلافی و برگ معمولی ـ ۲۷ سه غلافی و برگ چروکیده

۱۰- فنیل‌کتونوریا (PKU) یک بیماری وراثتی است که با یک الل مغلوب ایجاد می‌شود. اگر زنی و شوهرش که هر دو ناقل‌اند سه فرزند داشته باشند، احتمال هریک از موارد زیر چقدر است؟

a. هر سه فرزند فنوتیپ عادی داشته باشند.

b. یکی از فرزندان یا بیشتر، بیماری را داشته باشند.

c. هر سه فرزند بیمار باشند.

d. حداقل یکی از فرزندان فنوتیپ عادی یا سالم داشته باشد.

۱۱- ژنوتیپ افراد F_1 در یک آمیزش تتراهیبریدی $AaBbCcDd$ است. باتوجه به وراثت مستقل این ۴ ژن، احتمال اینکه افراد نسل F_2 ژنوتیپ‌های زیر را داشته باشند چقدر است؟

a. $aabbccdd$

b. $AaBbCcDd$

c. $AABBCCDD$

d. $AaBBccDd$

e. $AaBBCCdd$

۱۲- احتمال اینکه هر جفت والد زیر، فرزند مشخص‌شده را داشته باشند چه‌قدر است؟

a. $AABBCC \times aabbcc \rightarrow AaBbCc$

b. $AABbCc \times AaBbCc \rightarrow AAbbCC$

c. $AaBbCc \times AaBbCc \rightarrow AaBbCc$

d. $aaBbCC \times AABbcc \rightarrow AaBbCc$

۱۳- کارن و استیو هر دو خواهر یا برادری با بیماری کم‌خونی داسی‌شکل دارند، ولی هیچ‌کدام و هیچ‌یک از والدین‌شان بیمار نیستند. احتمال اینکه این زوج فرزندی با بیماری کم‌خونی داسی‌شکل داشته باشند چقدر است؟

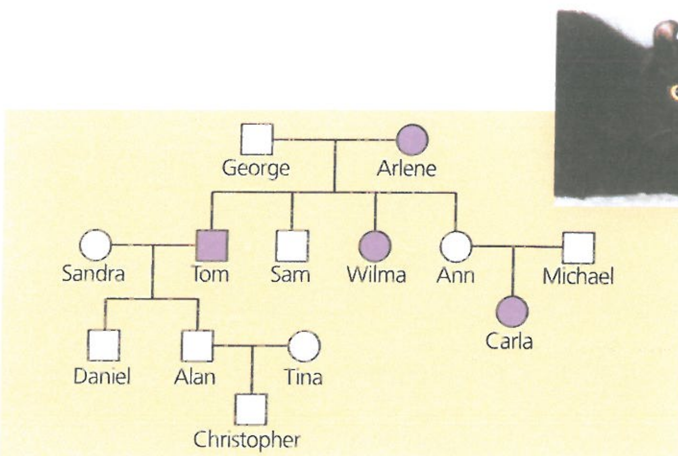
۱۴- در سال ۱۹۸۱، یک خانواده در کالیفرنیا یک گربهٔ سیاه ولگرد را نزد خود بردند که گوش‌های گرد و غیر معمولی داشت که به سمت عقب پیچ خورده بودند. صدها نسل از آن گربه تا کنون به‌دنیا آمده‌اند و گربه‌بازها امید دارند این گربه را پرورش داده و یک نژاد نمایشی به‌وجود آورند. فرض کنید که شما صاحب اولین گربهٔ دارای گوش‌های پیچ‌خورده بودید و می‌خواستید یک نژاد خالص را پرورش دهید. چطور مطمئن می‌شدید که الل پیچ‌خوردگی غالب است یا مغلوب؟ چگونه گربه‌های خالص با گوش‌های پیچ‌خورده را به‌وجود می‌آورید؟ چگونه می‌توانید مطمئن شوید که آنها نژاد خالص هستند؟

۱۵- تصور کنید که یک بیماری ارثی مغلوب که به تازگی کشف شده است، تنها در افراد دارای گروه خونی O بیان می‌شود، اگر چه این بیماری و گروه خونی به طور مستقل به ارث می‌رسند. مردی سالم با گروه خونی A و زنی سالم با گروه خونی B، قبلاً فرزندی با این بیماری داشته‌اند. در حال حاضر این زن برای بار دوم باردار است، چقدر احتمال دارد فرزند دوم نیز بیمار باشد؟ فرض کنید که این دو والد برای ژن مسبب این بیماری هتروزیگوس هستند.

۱۶- در ببرها یک الل مغلوب باعث فقدان خز رنگدانه‌دار (یک ببر سفید) و لوچی چشم می‌شود. اگر دو ببری که از نظر فنوتیپی سالم هستند و در این لوکوس هتروزیگوس می‌باشند، با یکدیگر آمیزش داده شوند، چند درصد از فرزندان آنها لوچی خواهند داشت؟ چند درصد از ببرهای لوچ، سفید خواهند بود؟

۱۷- در گیاهان ذرت، الل غالب I رنگ دانه را مهار می‌کند، در حالی که الل مغلوب i در صورت هوموزیگوس بودن، باعث رنگی شدن می‌شود. در یک لوکوس دیگر، الل غالب P موجب رنگ ارغوانی دانه می‌شود، در حالی که ژنوتیپ مغلوب هوموزیگوس pp دانه‌های قرمز را به‌وجود می‌آورد. اگر گیاهان هتروزیگوس در هر دو لوکوس، با یکدیگر آمیزش داده شوند، نسبت فنوتیپی فرزندان چه خواهد بود؟

۱۸- شجره‌نامهٔ پایین، وراثت آلکاپتونوریا (یک اختلال بیوشیمیایی) را دنبال می‌کند. افراد مبتلا با دایره‌ها و مربع‌های رنگی نشان داده شده‌اند که قادر به متابولیزه کردن ماده‌ای به‌نام آلکاپتون نیستند، که این امر باعث رنگی شدن ادرار و بافت‌های بدن می‌شود. آلکاپتونوریا توسط یک الل غالب ایجاد می‌شود، یا توسط یک الل مغلوب؟ ژنوتیپ افرادی که می‌توانید ژنوتیپ‌شان را استنتاج کنید را بنویسید. سایر افراد احتمالاً دارای چه ژنوتیپی هستند؟



۱۹- تصور کنید که شما یک مشاور ژنتیک هستید و زوجی که تصمیم دارند بچه‌دار شوند، برای مشاوره نزد شما می‌آیند. چارلز قبلاً یک‌بار ازدواج کرده و او و همسر اولش فرزند مبتلا به سیستیک فایبروزیس داشتند. برادر همسر فعلی‌اش، الاین (Elain)، به علت سیستیک فایبروزیس فوت کرد. چقدر احتمال دارد که بچهٔ چارلز و الاین مبتلا به سیستیک

فایبروزیس باشد؟ (چارلز، الاین و والدین آنها، هیچ‌کدام سیستیک فایبروزیس ندارند.)

۲۰- در موش‌ها موی سیاه (B) بر موی سفید (b) غالب است. در یک لوکوس متفاوت دیگر، الل غالب (A) نوار زردرنگی را درست در زیر نوک هر مو، در موش با موی سیاه ایجاد می‌کند. این امر موجب ظاهری بور به‌نام agouti می‌شود. بیان الل مغلوب (a) موجب رنگ یکپارچهٔ پوشش می‌شود. اگر موش‌های هتروزیگوس برای هر دو لوکوس، با یکدیگر آمیزش کنند، نسبت فنوتیپی مورد انتظار در فرزندان آنها چه خواهد بود؟

۲۱- ارتباط تکاملی

در طول نیم‌قرن گذشته، در ایالات متحده و سایر کشورهای پیشرفته، مردم تمایل دارند در سنین بالاتری، نسبت به والدین و پدر بزرگ و مادربزرگ‌هایشان، ازدواج کرده و خانواده‌دار شوند. این تمایل ممکن است چه تأثیری بر روی بروز (فراوانی) الل‌های غالب کشندهٔ دیررس، در جمعیت داشته باشد؟

۲۲- تحقیق علمی

شما یک گیاه نخودفرنگی اسرارآمیز با ساقه‌های طویل و گل‌های جانبی در دست دارید و از شما خواسته می‌شود تا در حداکثر سرعت ژنوتیپ آن را تعیین کنید. شما می‌دانید که الل ساقه‌های بلند (T) به ساقه‌های کوتاه (t) غالب است و الل گل‌های جانبی (A) به گل‌های انتهایی (a) غالب می‌باشد.

(a) *تمامی* ژنوتیپ‌های ممکن گیاه اسرارآمیز شما کدامند؟

(b) *آمیزشی* را شرح دهید که برای تعیین دقیق ژنوتیپ گیاه اسرارآمیزتان در باغ انجام می‌دهید.

(c) مادامی که منتظر نتایج آمیزش‌تان هستید، شما ژنوتیپ‌های ممکن در قسمت a را پیش‌بینی می‌کنید. چگونه این‌کار را انجام می‌دهید؟ چرا این امر «انجام یک آمیزش» گفته نمی‌شود؟

(d) توضیح دهید چگونه نتایج آمیزش شما و پیش‌بینی شما، به شما کمک خواهد کرد تا ژنوتیپ گیاه اسرارآمیز خود را به‌دست آورید.

۲۳ - علم، فناوری و جامعه

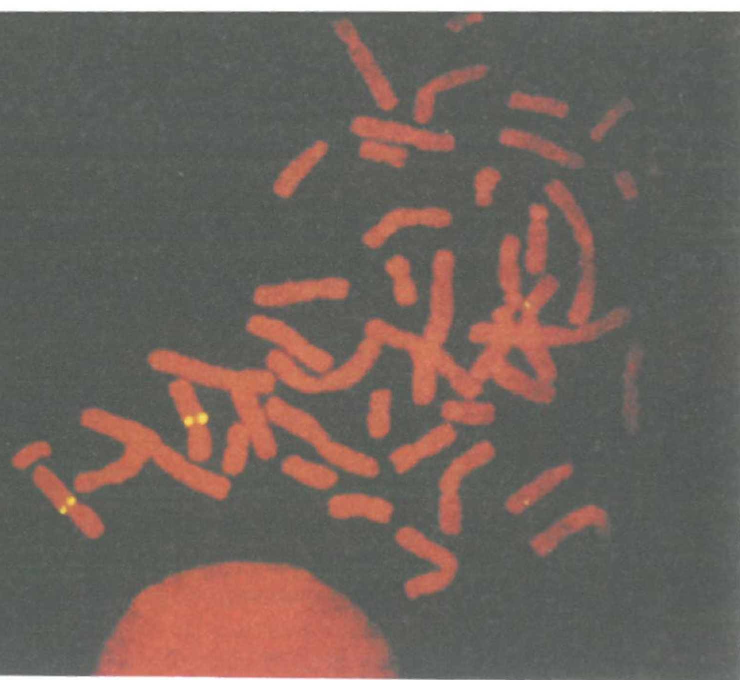
تصور کنید که یکی از والدین شما دارای بیماری هانتینگتون است. چقدر احتمال دارد که شما نیز روزی به این بیماری مبتلا شوید؟ درمانی برای هانتینگتون وجود ندارد. آیا شما مایلید که برای الل هانتینگتون آزمایش شوید؟ چرا بله چرا خیر؟

۲۴- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات. ادامهٔ حیات به اطلاعات وراثتی به شکل DNA بستگی دارد. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت) توضیح دهید چگونه انتقال ژن‌ها از والدین به فرزندان، به صورت الل‌های خاص، جاودان‌سازی صفات والدین در فرزندان و همچنین تنوع ژنتیکی در بین فرزندان را تأمین می‌کند. در توضیحات خود اصطلاحات ژنتیکی را به‌کار ببرید.

15

اساس کروموزومی وراثت



شکل ۱- ۱۵ **عوامل وراثتی مندل در کجای سلول جای گرفته‌اند؟**

مفاهیم کلیدی

۱ – ۱۵ اساس فیزیکی وراثت مندلی بر مبنای رفتار کروموزوم‌هاست

۲ – ۱۵ ژن‌های وابسته به جنس، الگوی وراثتی منحصربه‌فردی دارند

۳ – ۱۵ ژن‌های پیوسته تمایل دارند با هم به ارث برسند زیرا آنها نزدیک به هم و برروی یک کروموزوم واقع شده‌اند

٤ – ۱۵ تغییر در تعداد یا ساختار کروموزوم‌ها موجب برخی اختلالات ژنتیکی می‌شود

۵ – ۱۵ برخی از الگوهای وراثتی مغایر با وراثت استاندارد مندلی هستند

نگاه کلی

ژن‌ها بر روی کروموزوم‌ها قرار دارند

زمانی که در سال ۱۸۶۰، گرگور مندل وجود «عوامل وراثتی» را مطرح کرد، این عوامل صرفاً یک تصور کلی بودند. در آن زمان، ساختار سلولی که این واحدهای فرضی را در خود جای دهد، شناخته نشده بود. حتی پس از اینکه کروموزوم‌ها برای اولین بار مشاهده شدند نیز بسیاری از زیست‌شناسان در مورد قوانین مندلی (تفکیک و جور شدن مستقل) شک داشتند، تا زمانی که شواهد کافی فراهم شد که اصول وراثت مندلی، بر مبنای رفتار کروموزوم‌ها است.

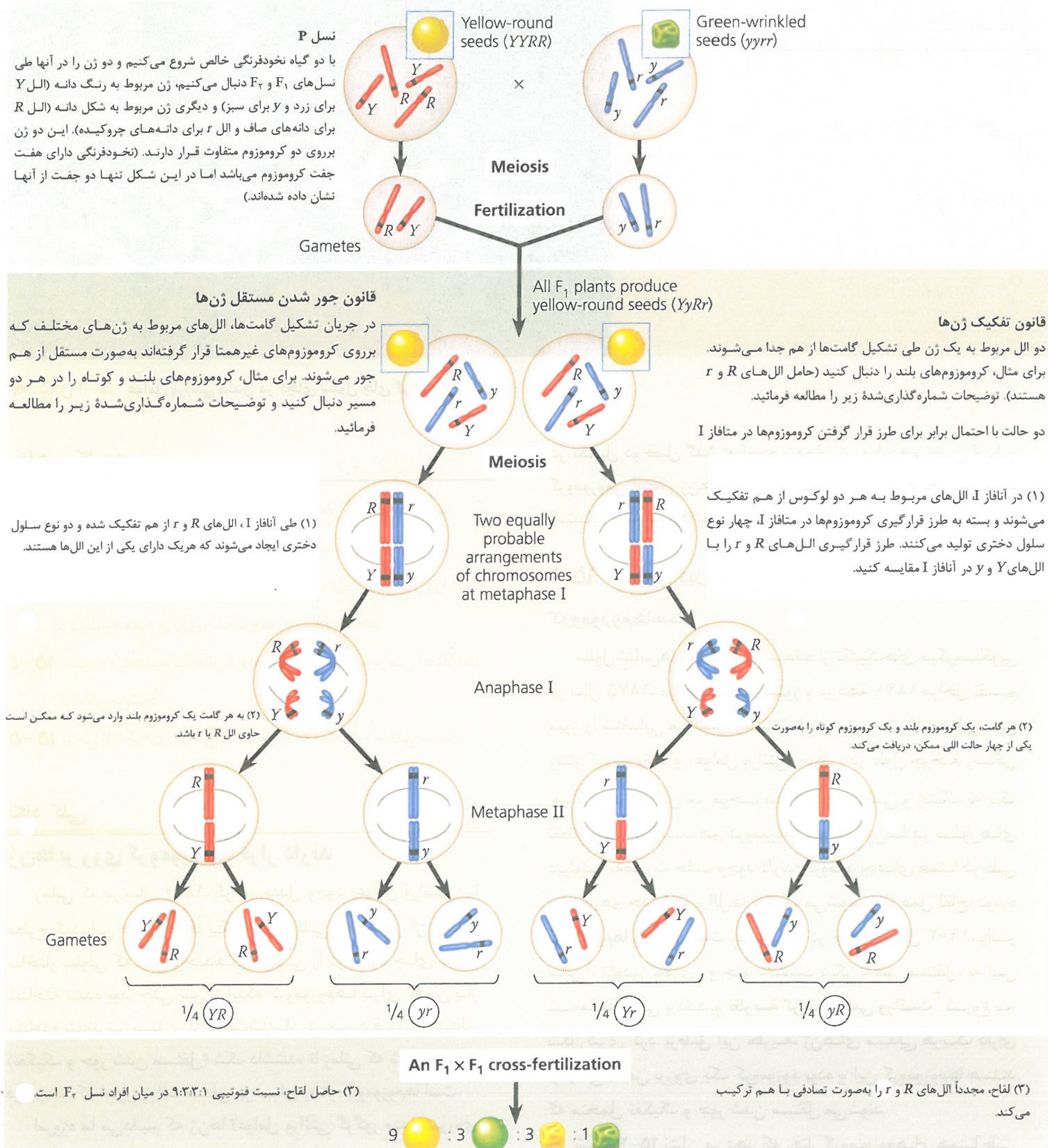
امروزه ما می‌دانیم که ژن‌ها (عوامل وراثتیِ گرگور مندل) برروی کروموزوم‌ها قرار دارند. ما می‌توانیم از طریق نشان‌دار کردن کروموزوم‌ها توسط یک مادهٔ رنگی فلوئورسنت که مکان ژن مورد نظر ما را مشخص می‌کند، به بررسی لوکوس‌های ژنی بپردازیم. برای مثال، نقطه‌های زرد رنگ در **شکل ۱- ۱۵**، مکان یک ژن خاص را در یک جفت کروموزوم همتای انسان نشان می‌دهند. در این فصل که در تکمیل دو فصل گذشته آورده شده است، ما به بررسی اساس کروموزومیِ انتقال ژن‌ها از والدین به فرزندان و همچنین چند استثنای مهم می‌پردازیم.

۱۵-۱ اساس فیزیکی وراثت مندلی برمبنای رفتار کروموزوم‌هاست

سلول‌شناس‌ها توانستند با استفاده از تکنیک‌های میکروسکوپی در سال ۱۸۷۵، مراحل تقسیم میتوز و در دههٔ ۱۸۹۰ مراحل تقسیم میوز را شناسایی می‌کنند. زیست‌شناسان متوجه شباهت‌هایی بین رفتار کروموزوم‌ها و «عوامل وراثتی» مندلی در طول چرخهٔ زندگی جنسی شدند و این امر موجب شد تا سلول‌شناسی و ژنتیک به یک نقطهٔ مشترک برسند: *هم کروموزوم‌ها و هم ژن‌ها در سلول‌های دیپلوئید به‌صورت جفت وجود دارند*؛ کروموزوم‌های همتا در طی میوز از هم جدا شده و الل‌ها تفکیک می‌شوند؛ و با عمل لقاح، دوباره کروموزوم‌ها و ژن‌ها جفت می‌شوند. در حدود سال ۱۹۰۲، والتر ساتن[1]، تئودور بووری[2] و چند دانشمند دیگر به‌طور مستقل، به این شباهت‌ها پی بردند و **نظریهٔ کروموزومی وراثت**[3] شروع به شکل‌گیری کرد. برطبق این نظریه، ژن‌های مندلی هریک دارای لوکوسی خاص برروی یک کروموزوم بوده و این کروموزوم‌ها هستند که متحمل تفکیک و جور شدن مستقل می‌شوند.

شکل ۲-۱۵ نشان می‌دهد که رفتار کروموزوم‌های همتا طی میوز، می‌تواند جدا شدن الل‌های هر لوکوس ژنتیکی را به گامت‌های

1- Walter S. Sutton
2- Theodor Boveri
3- Chromosome theroy of inheritance



◄ **شکل ۲-۱۵ اساس کروموزومیِ قوانین مندل.** *در این شکل، نتایج حاصل از آمیزش دی‌هیبریدی مندل (به شکل ۸-۱۴ مراجعه کنید) را با رفتار کروموزوم‌ها طی میوز مرتبط کرده‌ایم (به شکل ۸-۱۳ مراجعه کنید). آرایش کروموزوم‌ها در متافاز I میوز و حرکت آنها طی آنافاز I، تفکیک و جور شدن مستقل الل‌های رنگ و شکل دانه را توجیه می‌کند. هر سلولی از گیاهان نسل F_1 که میوز انجام دهد، ۲ نوع گامت تولید می‌کند. روی هم رفته، گیاهان F_1 تعداد برابری از چهار نوع گامت را تولید می‌کنند، زیرا دو آرایش متفاوت کروموزوم‌ها در متافاز I، احتمال برابری دارند.*

؟ اگر شما یک گیاه F_1 را با گیاهی آمیزش می‌دادید که برای هر دو ژن هوموزیگوس مغلوب (yyrr) بود، نسبت فنوتیپی زاده‌ها، در مقایسه با نسبت ۹:۳:۳:۱ که در اینجا مشاهده می‌کنید، چه فرقی داشت؟

متفاوت تفسیر کند. این شکل همچنین نشان می‌دهد که رفتار کروموزوم‌های غیرهمتا می‌تواند جور شدن مستقل الل‌های دو یا چند ژن که برروی کروموزوم‌های متفاوتی واقع شده‌اند را توضیح دهد. با بررسی دقیق این شکل، که همان آمیزش دی‌هیبریدی نخودفرنگی را دنبال می‌کند، شما می‌توانید ببینید که چگونه رفتار کروموزوم‌ها طی میوز در نسل F_1 و به دنبال آن لقاح تصادفی، منجر به نسبت فنوتیپی مشاهده‌شده توسط مندل می‌شود.

شواهد تجربی مورگان: تحقیق علمی

اولین مدرک محکم در مورد ارتباط یک ژن خاص با یک کروموزوم خاص نتیجهٔ کارهای توماس هانت مورگان[1] بود. او یک جنین‌شناس تجربی در دانشگاه کلمبیا در اوایل قرن بیستم بود. با اینکه مورگان در ابتدا در مورد هر دو تئوری کروموزومی و مندلی تردید داشت، اما آزمایش‌های اولیهٔ او، شواهد متقاعدکننده‌ای را مبنی براین‌که کروموزوم‌ها در حقیقت مکان فاکتورهای وراثتی مندل هستند، ارائه داد.

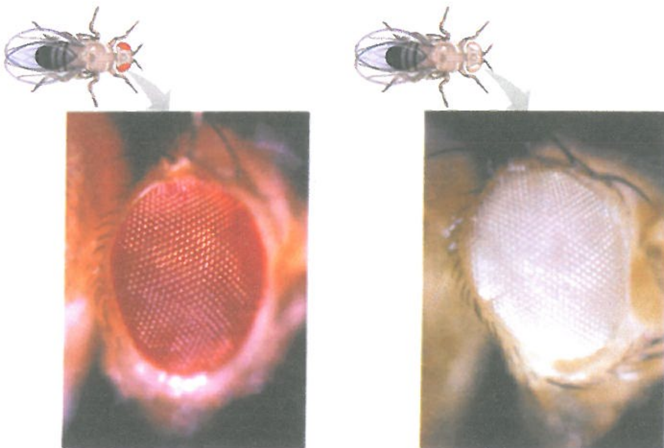
جاندار منتخب (آزمایشگاهی) مورگان

در تاریخ زیست‌شناسی، این اتفاقات بارها رخ داده است که کشفیات بسیار مهم به‌خاطر شانس در انتخاب جاندار آزمایشگاهی رخ داده‌اند. مندل از نخودفرنگی استفاده کرد زیرا انواع مختلفی از آن در دسترس بود. مورگان برای کار خودش از یک گونه مگس سرکه استفاده کرد، *دروزوفیلا ملانوگاستر*[2]، نوعی مگس که معمولاً بی‌ضرر است و از قارچ‌های روئیده‌شده برروی میوه‌ها تغذیه می‌کند. تعداد زاده‌های مگس‌های سرکه زیاد است به‌طوری‌که طی یک آمیزش صدها فرزند متولد می‌شوند و هر مگس طی دو هفته توانایی تولیدمثل پیدا می‌کند. این خصوصیات موجب شده‌اند تا این مگس موجودی مناسب برای تحقیقات ژنتیکی باشد. خیلی زود آزمایشگاه مورگان به‌نام «اتاق مگس‌ها» شهرت یافت.

یکی دیگر از مزیت‌های مگس‌های سرکه این است که تنها چهار جفت کروموزوم دارند که به‌راحتی قابل تفکیک هستند و توسط میکروسکوپ نوری می‌توان آنها را مشاهده کرد. سه جفت از این کروموزوم‌ها، اتوزوم و یک جفت از آنها جنسی‌اند. مگس سرکهٔ ماده دارای یک جفت کروموزوم همتای X است، درصورتی‌که مگس نر، تنها دارای یک کروموزوم X و یک کروموزوم Y است.

برخلاف مندل که انواع مختلف نخود را در اختیار داشت، احتمالاً مورگان نخستین کسی بود که به دنبال تنوع در این حشرهٔ عادی بود. پس از گذشت یک‌سال از پرورش مگس‌ها و جستجو برای انواع متفاوت، مورگان نتیجهٔ زحمات خود را با پیدا کردن یک مگس نر که برخلاف حالت معمول (یعنی چشم قرمز) دارای چشم سفید بود، گرفت. به فنوتیپی که به‌صورت طبیعی برای یک صفت بیشترین فراوانی را در جمعیت دارد، مثل رنگ چشم قرمز در دروزوفیلا، **نوع وحشی** می‌گویند (**شکل ۳ - ۱۵**). به حالات مختلفی که ممکن است جایگزین نوع وحشی شوند، مثل رنگ چشم سفید در *دروزوفیلا*، **فنوتیپ‌های جهش‌یافته**[3] می‌گویند زیرا مربوط به الل‌هایی هستند که حاصل تغییر و یا جهش در الل نوع وحشی می‌باشند.

مورگان و شاگردانش نوعی روش نشانه‌گذاری برای مشخص کردن الل‌ها در دروزوفیلا ابداع کردند که هنوز به‌شکل گسترده‌ای کاربرد دارد. ژن هر صفتی، علامت خود را از اولین جهش‌یافته‌ای (نوع غیروحشی) که یافت شد، دریافت می‌کند. بنابراین الل مربوط به چشم سفید در دروزوفیلا را با حرف w نشان می‌دهیم. بالانویس +، الل مربوط به حالت وحشی را مشخص می‌کند، مثلاً w^+ برای چشمان قرمزرنگ. در گذر سال‌ها، سیستم‌های مختلف نشانه‌گذاری ژن‌ها برای جانداران مختلف طراحی شده‌اند. برای مثال، در مورد انسان معمولاً تمامی حروف مربوط به ژن را به‌صورت بزرگ[4] می‌نویسیم مثلاً *HD* برای الل بیماری هانتینگتون.



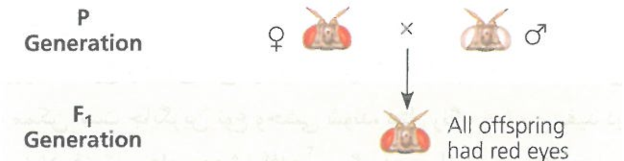
◀ **شکل ۳ - ۱۵ اولین جهش‌یافتهٔ مورگان.** *نوع وحشی دروزوفیلا دارای چشمان قرمزرنگ است (سمت چپ). مورگان در میان مگس‌هایش یک مگس نر جهش‌یافته پیدا کرد که چشمانی سفید داشت (سمت راست). این گوناگونی به مورگان این امکان را داد که بتواند ژن مربوط به رنگ چشم را به یک کروموزوم خاص مربوط سازد (LMs).*

1- Thomas Hunt Morgan
2- *Drosophila melanogaster*
3- Mutant phenotypes
4- Capital

▶ شکل ۴- ۱۵ پژوهش

حاصل آمیزش مگس سرکهٔ مادهٔ وحشی با نر چشم‌سفید در نسل‌های F_1 و F_2 چگونه خواهد بود؟

آزمایش: مورگان، نوع وحشی مگس ماده (چشم‌قرمز) را با یک نر جهش‌یافتهٔ چشم‌سفید آمیزش داد. تمامی فرزندان نسل F_1 چشمانی قرمز داشتند.

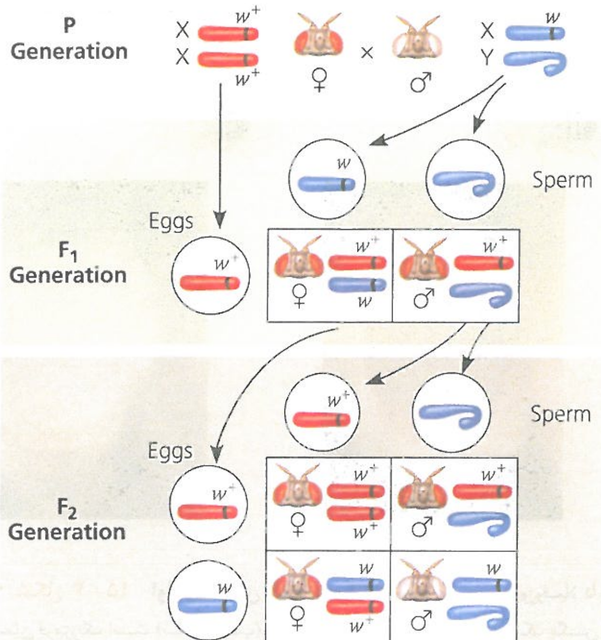


سپس مورگان نرها و ماده‌های حاصل از نسل F_1 را باهم آمیزش داد.

نتایج: در نسل F_2، نسبت مندلی ۳:۱ چشمان قرمز به چشمان سفید مشاهده شد. اما هیچ مگس ماده‌ای چشم سفید نداشت و نصف نرها، چشم‌سفید و نصف دیگر دارای چشم قرمز بودند.



نتیجه‌گیری: از آن‌جایی‌که تمامی فرزندان نسل F_1 دارای چشمانی قرمز بودند، الل سفید (w) می‌بایست نسبت به الل چشم قرمز (w^+) مغلوب باشد. از آن‌جایی‌که حالت مغلوب ـ چشمان سفید ـ تنها در نرهای نسل F_2 مشاهده شد، مورگان این فرضیه را مطرح کرد که ژن رنگ چشم برروی کروموزوم X واقع شده و هیچ جایگاه معادلی برای این ژن برروی کروموزوم Y وجود ندارد.



منبع:
T.H.Morgan, Sex-limited inheritance in Drosophila, Science 32: 120-122 (1910).

چه می‌شد اگر؟ *فرض کنید که ژن رنگ چشم بر روی یک کروموزوم اتوزوم قرار دارد. فنوتیپ مگس‌های F_2 (شامل جنسیت) در این آمیزش فرضی را پیش‌بینی کنید. (راهنمایی: یک جدول پانت رسم کنید.)*

ارتباط دادن رفتار الل‌های ژن با رفتار جفت کروموزوم‌ها

مورگان مگس نر خود را که دارای چشمانی سفید بود با یک مگس مادهٔ چشم‌قرمز آمیزش داد. تمامی فرزندان نسل F_1 دارای چشمانی به‌رنگ قرمز بودند پس پیش‌بینی می‌شد که قرمزی چشم، الل غالب است. هنگامی‌که مورگان مگس‌های نسل F_1 را با هم آمیزش داد نسبت فنوتیپی کلاسیک ۳:۱ را در میان زاده‌های نسل F_2 مشاهده کرد. اما یک نتیجهٔ غافلگیرانه نیز وجود داشت: چشم سفید تنها در میان مگس‌های نر مشاهده می‌شد. تمامی مگس‌های مادهٔ نسل F_2 دارای چشمانی قرمز بودند، درحالی‌که نصف مگس‌های نر نسل F_2، دارای چشمانی قرمز و نصف دیگر، چشمانی سفید داشتند. بنابراین مورگان نتیجه گرفت که چشم سفیدرنگ به‌نوعی با جنسیت ارتباط دارد. (اگر ژن رنگ چشم با جنسیت مرتبط نبود آن‌گاه پیش‌بینی می‌شد که نصف مگس‌های چشم‌سفید، ماده و نصف دیگر، نر باشند.)

مگس ماده دارای دو کروموزوم X است (XX)، درحالی‌که مگس نر، یک X و یک Y دارد (XY). ارتباط بین رنگ سفید چشم و نر بودن تمامی افرادی که این حالت را در نسل F_2 نشان دادند، مورگان را به این نتیجه رساند که ژن جهش‌یافتهٔ مربوط به رنگ سفید برروی کروموزوم X واقع شده است و هیچ معادلی در کروموزوم Y ندارد. دلایل وی را می‌توان در **شکل ۴- ۱۵** مشاهده کرد. در جنس نر، یک نسخه از الل جهش‌یافته برای بروز حالت سفیدی رنگ در چشم کافی است زیرا فرد نر تنها یک کروموزوم X دارد و هیچ الل وحشی‌ای (w^+) وجود ندارد تا اثر الل مغلوب را از بین ببرد. از طرف دیگر، فرد ماده باید دارای دو الل جهش‌یافته باشد تا بتواند چشمانی سفید داشته باشد و این امر در ماده‌های نسل F_2 مورگان غیرممکن بود زیرا تمامی نرهای نسل F_1 دارای چشمانی قرمز بودند.

یافته‌های مورگان در مورد ارتباط یک صفت خاص با جنسیت فرد، از نظریهٔ کروموزومی وراثت حمایت کرد: یعنی یک ژن خاص توسط یک کروموزوم خاص حمل می‌شود (در این مثال، ژن رنگ چشم توسط کروموزوم X). علاوه بر این، پژوهش‌های مورگان نشان داد که ژن‌هایی که برروی کروموزوم‌های جنسی هستند، دارای الگوی وراثتی ویژه‌ای می‌باشند. در این مورد کمی جلوتر در همین فصل بحث خواهیم کرد. بسیاری از دانشجویان باهوش مورگان پی به اهمیت کارهای مورگان بردند و جذب اتاق مگس‌های وی شدند.

پرسش‌های مبحث ۱-۱۵

۱. کدام‌یک از قوانین مندل مربوط به وراثت الل‌های یک صفت است؟ کدام قانون دربارهٔ وراثت الل‌های مربوط به دو صفت در آمیزش دی‌هیبریدی است؟

۲. **ارتباط دهید.** شرح میوز در شکل ۸-۱۳ و دو قانون مندلی در مبحث ۱-۱۴ را مطالعه کنید. اساس فیزیکیِ هر یک از قوانین مندل چیست؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** یک دلیل پیشنهاد کنید که چرا نخستین مگس میوهٔ جهش‌یافته‌ای که مورگان مشاهده کرد دارای یک ژن جهش‌یافته بر روی کروموزوم جنسی بود.

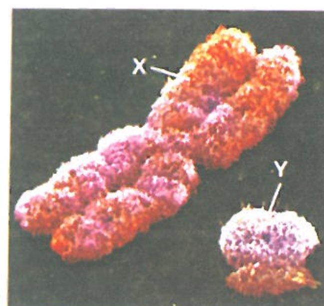
برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۲-۱۵ ژن‌های وابسته به جنس، الگوی وراثتی منحصربه‌فردی دارند

همان‌طورکه پیش‌تر آموختید، کشف مورگان در مورد صفت سفیدی چشم که مرتبط با جنسیت مگس‌ها بود، نکتهٔ کلیدی در پیشرفت نظریهٔ کروموزومی وراثت بود. از آن‌جایی که ماهیت کروموزوم‌های جنسی در یک فرد را می‌توان با مشاهدهٔ جنسیت مگس استنباط کرد، رفتار جفت کروموزوم‌های جنسی را می‌توان با رفتار دو الل ژن رنگ چشم ارتباط داد. در این قسمت به بررسی کروموزوم‌های جنسی با جزئیات بیشتری می‌پردازیم. با بررسی اساس کروموزومی تعیین جنسیت در انسان و تعداد دیگری از حیوانات بحث را آغاز می‌کنیم.

اساس کروموزومی جنسیت

مرد یا زن بودن یکی از بارزترین صفات فنوتیپی است. با آنکه تفاوت‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی بین زن و مرد بسیار است، اساس کروموزومی تعیین جنسیت مطلبی ساده است. در انسان و سایر پستانداران، دو نوع کروموزوم جنسی وجود دارند که با حروف X و Y نشان داده می‌شوند. کروموزوم Y بسیار کوچک‌تر از X است (**شکل ۵-۱۵**). فردی که دو کروموزوم X (هرکدام را از یک والد) به ارث می‌برد، معمولاً فنوتیپ زن را بروز می‌دهد، و مرد حاصل تکوین زیگوتی است که دارای یک کروموزوم X و



◄ **شکل ۵-۱۵ کروموزوم‌های جنسی انسان.**

یک کروموزوم Y است (**شکل ۶a-۱۵**). تنها قسمت‌های کوچکی از هر دو انتهای کروموزوم Y با قسمت‌های مشابه خود در کروموزوم X، همتا هستند. این نواحی همتا، به کروموزوم‌های X و Y اجازه می‌دهند تا جفت شوند و در طی میوز، رفتاری مشابه کروموزوم‌های همتا داشته باشند.

هم در بیضه‌ها و هم در تخمدان‌ها، دو کروموزوم جنسی طی میوز از هم تفکیک می‌شوند و هرکدام وارد یک گامت خواهند شد. هر تخمک دارای یک کروموزوم X است. درحالی‌که اسپرم‌ها دو دسته‌اند: نصف اسپرم‌های مرد حاوی کروموزوم X و نصف دیگر دارای کروموزوم Y هستند. می‌توان جنسیت هر فرزند را در همان لحظهٔ لقاح مشخص کرد: اگر اسپرم حاوی کروموزوم X باشد، زیگوت XX می‌شود و فرد ماده خواهد بود و اگر اسپرمی که تخمک را بارور می‌کند حاوی Y باشد، زیگوت XY و فرد نر خواهد بود (شکل ۶a-۱۵ را ببینید). بنابراین تعیین جنسیت، رویدادی تصادفی است - با احتمال پنجاه پنجاه. در کنار سیستم X-Y که مربوط به پستانداران می‌باشد، سه سیستم دیگر نیز در **شکل ۶b-d-۱۵** توضیح داده شده است.

در انسان‌ها، نشانه‌های آناتومی جنسیت، هنگامی‌که جنین حدود دو ماه سن دارد، شروع به پدیدار شدن می‌کند. تا قبل از این زمان، غدد جنسی در هر دو جنس مشابه هستند - یعنی می‌توانند به بیضه یا تخمدان تبدیل شوند. اینکه کدام‌یک از این حالات ایجاد شود وابسته به این است که کروموزوم Y وجود داشته باشد یا نه. در سال ۱۹۹۰، یک تیم تحقیقاتی انگلیسی موفق شدند ژنی را که موجب تکوین بیضه‌ها می‌شد را برروی کروموزوم Y بیابند. آنها این ژن را *SRY*، یعنی ناحیهٔ تعیین‌کنندهٔ جنسیت در کروموزوم Y (sex-determining region of Y) نامیدند. در غیاب *SRY*، گنادها به تخمدان تکوین می‌یابند. ویژگی‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و آناتومیکی که نرها را از ماده‌ها متمایز می‌سازند، پیچیده بوده و ژن‌های بسیاری در تکوین آنها نقش دارند. در حقیقت، *SRY* پروتئینی را رمز می‌کند که سایر ژن‌ها را تنظیم می‌نماید.

پژوهشگران کروموزوم Y انسانی را توالی‌یابی کرده‌اند و ۷۸ ژن را شناسایی نموده‌اند که حدود ۲۵ پروتئین را رمز می‌کنند (برخی ژن‌ها مضاعف شده‌اند). حدود نیمی از این ژن‌ها، تنها در بیضه‌ها بیان می‌شوند و برخی از آنها برای عملکرد طبیعی بیضه‌ها و تولید اسپرم‌های طبیعی لازمند. ژنی که روی یک کروموزوم جنسی قرار دارد، **ژن وابسته به جنس** نامیده می‌شود؛ ژن‌هایی که روی کروموزوم Y قرار دارند، ژن‌های وابسته به Y نامیده می‌شوند. در حقیقت، کروموزوم Y به شکل کامل و دست‌نخورده از پدر به تمامی

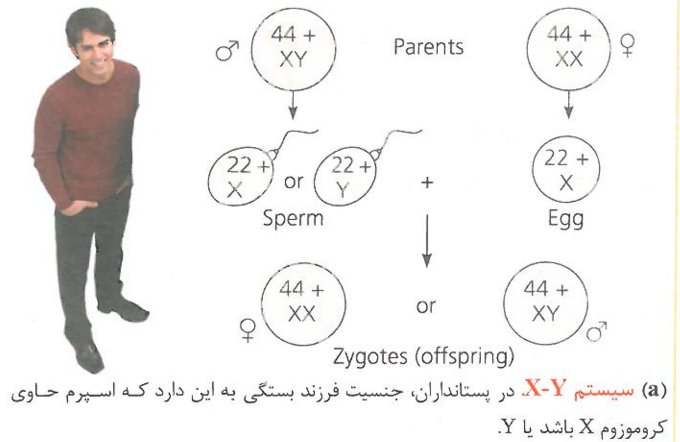
پسران وی منتقل می‌شود. از آنجایی که ژن‌های وابسته به Y تقریباً کمی وجود دارند، اختلالات بسیار کمی، به واسطهٔ کروموزوم Y، از پدر به پسر منتقل می‌شوند. مثال نادر این مورد، در غیاب بعضی از ژن‌های وابسته به Y اتفاق می‌افتد، که فرد XY نر است اما اسپرم طبیعی تولید نمی‌کند.

کروموزوم X انسانی، تقریباً دارای ۱,۱۰۰ ژن است، که **ژن‌های وابسته به X** نامیده می‌شوند. این واقعیت که نرها و ماده‌ها تعداد متفاوتی از کروموزوم‌های X را به ارث می‌برند، باعث شده که الگوی توارث آنها با الگوی توارث ژن‌های واقع بر روی کروموزوم‌های اتوزوم، فرق داشته باشد.

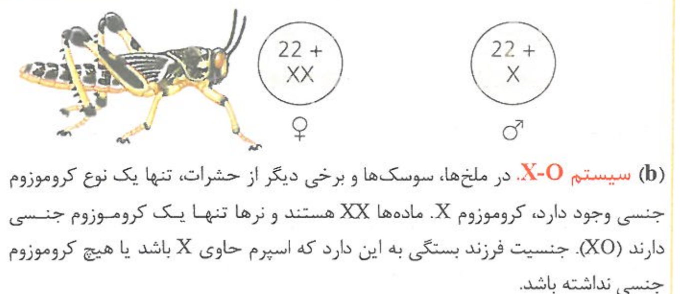
وراثت ژن‌های وابسته به X

با آنکه بیشتر ژن‌های وابسته به Y به تعیین جنسیت کمک می‌کنند، کروموزوم‌های X، ژن‌های متعددی دارند که مربوط به صفاتی هستند که ربطی به جنسیت ندارند. ژن‌های وابسته به جنس در انسان از همان الگوی وراثتی که مورگان در مورد لوکوس رنگ چشم در دروزوفیلا مشاهده کرد، پیروی می‌کنند (شکل ۴- ۱۵ را ببینید). پدران الل‌های وابسته به جنس خویش را به تمامی دختران خود منتقل می‌کنند و به هیچ یک از پسرها اللی نمی‌دهند. در عوض، مادران می‌توانند الل‌های وابسته به جنس را هم به فرزندان دختر و هم به فرزندان پسر خود منتقل کنند (**شکل ۷- ۱۵**).

اگر صفتی وابسته به X به‌خاطر الل‌های مغلوب باشد، آن‌گاه فرد ماده تنها زمانی این فنوتیپ را بروز می‌دهد که هوموزیگوت باشد. از آن‌جایی‌که مردان تنها یک لوکوس برای ژن‌های وابسته به جنس خود دارند، واژه‌های هتروزیگوس و هوموزیگوس در این مورد برای آنها معنا ندارد (در این موارد، همی‌زیگوس[1] استفاده می‌شود). هر فرد نری که یک الل مغلوب از مادر خود دریافت کند، آن صفت را بروز می‌دهد. به همین دلیل تعداد بیشتری از مردان مبتلا به اختلالات وابسته به X مغلوب می‌شوند. برای مثال، کوررنگی یک اختلال وراثتی وابسته به جنس است. ممکن است دختر کوررنگ از پدری کوررنگ که همسری ناقل دارد متولد شود (شکل 7c- ۱۵ را ببینید). اما از آن‌جایی‌که فراوانی الل مربوط به کوررنگی کم است، احتمال آمیزش بین چنین مرد و زنی اندک می‌باشد.



(a) **سیستم X-Y**. در پستانداران، جنسیت فرزند بستگی به این دارد که اسپرم حاوی کروموزوم X باشد یا Y.



(b) **سیستم X-O**. در ملخ‌ها، سوسک‌ها و برخی دیگر از حشرات، تنها یک نوع کروموزوم جنسی وجود دارد، کروموزوم X. ماده‌ها XX هستند و نرها تنها یک کروموزوم جنسی دارند (XO). جنسیت فرزند بستگی به این دارد که اسپرم حاوی X باشد یا هیچ کروموزوم جنسی نداشته باشد.



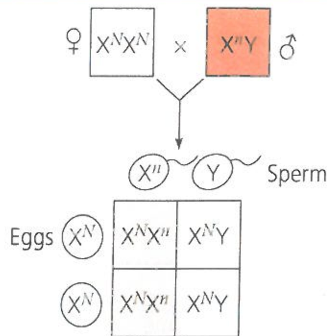
(c) **سیستم Z-W**. *در پرندگان، برخی ماهی‌ها و بعضی حشرات، کروموزوم جنسی‌ای که در تخمک است (نه در اسپرم)، ماهیت جنسی فرزند را مشخص می‌کند. کروموزوم‌های جنسی را در این جانداران با Z و W مشخص می‌کنند. ماده‌ها ZW و نرها ZZ هستند.*



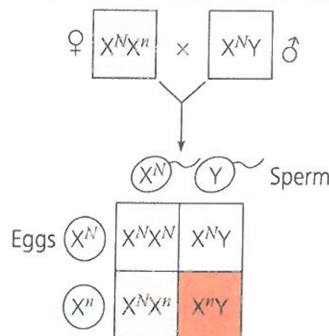
(d) **سیستم هاپلو ـ دیپلوئید**. در بسیاری از گونه‌های زنبور و مورچه، هیچ‌گونه کروموزوم جنسی وجود ندارد. ماده‌ها حاصل تخم بارورشده هستند و بنابراین دیپلوئیدند، و نرها حاصل تخم لقاح‌نیافته بوده و هاپلوئید هستند و پدری ندارند.

شکل ۶- ۱۵ بعضی از سیستم‌های کروموزومی تعیین جنسیت. *اعداد، تعداد کروموزوم‌های اتوزوم را مشخص می‌کنند. در دروزوفیلا، نرها XY هستند اما جنسیت بستگی به نسبت بین تعداد کروموزوم‌های X و تعداد مجموعه کروموزوم‌های اتوزوم دارد، نه اینکه تنها بسته به حضور کروموزوم Y باشد.*

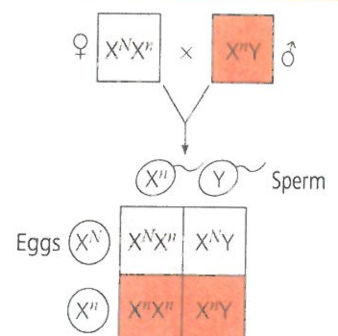
1- Hemizygous



(a) پدر کوررنگ، الل جهش‌یافته را به همهٔ دختـران منتقـل کرده ولی به هیچ پسری این الل را نمی‌دهد. زمانی‌که مـادر هوموزیگوت غالب باشد، دختر فنوتیپ طبیعی خواهد داشت اما برای این ژن جهش‌یافته ناقل خواهد بود.



(b) هنگامی‌که مادر ناقل با یک پدر سالم آمیزش کنند، ۵۰٪ احتمال دارد که فرزند دختر مثل مادر خـویش ناقـل باشـد و نیز ۵۰٪ احتمال وجود دارد که پسر دارای این اختلال باشد.



(c) هنگامی‌که مادر ناقل با پـدر بیمـار آمیـزش کننـد، ۵۰٪ احتمال وجود دارد کـه هریـک از فرزنـدان بـدون توجـه بـه جنسیت فرزند، دارای این اختلال باشند. دخترانی که فنوتیپ بیمار ندارند ناقل هستند، درحالی‌که پـسران بـدون اخـتلال، کاملاً سالم و بدون الل مغلوب می‌باشند.

شکل ۷ - ۱۵ وراثت صـفات وابـسته بـه X مغلوب. *در این شکل، از کوررنگی بـه عنـوان یـک مثـال استفاده شده است. بالانویس N نشان‌دهندهٔ الل غالب برای دید رنگی طبیعی است که برروی کروموزوم X قرار دارد و بالانویس n به‌منزلهٔ الل مغلوب می‌باشـد. ایـن الـل مغلـوب یک ژن جهش‌یافته می‌باشد که کوررنگی تولید مـی‌کنـد. مربع‌های سفید نشانهٔ افراد سالم، مربع‌های نارنجی کم‌رنگ به منزلهٔ افراد ناقل، و مربع‌های نارنجی پررنـگ مربـوط بـه افرادی است که کوررنگی دارند.*

؟ اگر یک زن کوررنگ با یک مرد با بینایی طبیعـی ازدواج کنـد، فنوتیـپ‌هـای احتمالی فرزندان آنها چیست؟

بسیاری از اختلالات وابسته به جنس در انسان بسیار مهـم‌تـر از کوررنگی هستند؛ مثـل **دیستروفی (تحلیل) ماهیچه‌ای دوشن**[1] کـه از هر ۳,۵۰۰ مرد در آمریکا یـک نفـر بـه آن دچـار مـی‌شود. ایـن بیماری موجب ضعف پیشروندهٔ ماهیچه‌ها و کـاهش همـاهنگی آنهـا می‌شود. افراد بیمار به ندرت بیشتر از اوایل دهـهٔ دوم زنـدگی خـود عمر می‌کنند. محققین بـه بررسـی علـت ایـن بیمـاری پرداختنـد و متوجه شدند که عامل آن فقدان یـک پـروتئین ماهیچـه‌ای کلیـدی به‌نام دیستروفین است و پس از نقشه‌یابی ایـن ژن دریافتنـد کـه در لوکوس خاصی برروی کروموزوم X واقع شده است

هموفیلی یک اختلال وابسته به X مغلوب دیگر است که در آن یک یا چند پروتئین مورد نیاز برای لخته شدن خون وجـود ندارنـد. هنگامی‌که یک فرد مبتلا به ایـن بیمـاری مجـروح مـی‌شـود، زمـان خون‌ریزی او طولانی می‌گردد زیرا خون این فرد دیر لخته می‌شـود. معمولاً خراش‌های کوچک مشکلی برای این افراد ایجاد نمی‌کنند اما خون‌ریزی در ماهیچه‌ها و مفاصل برای آنها دردناک و حتی می‌تواند خطرناک باشد. امروزه افراد مبتلا را از طریق تزریق پروتئین‌هایی که فاقد آن هستند درمان می‌کنند.

غیرفعال‌شدن کروموزوم X در پستانداران ماده

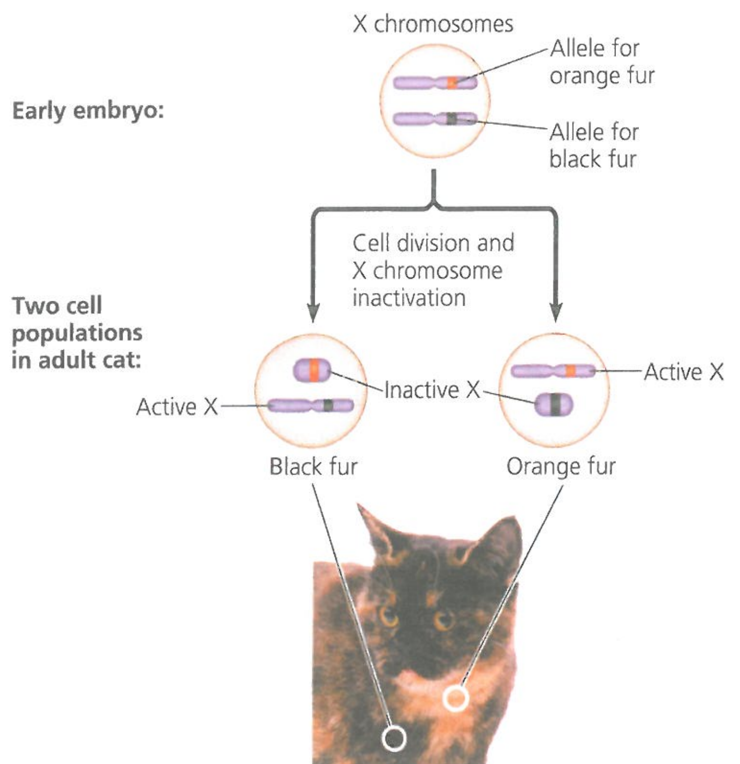
با آنکه پستانداران ماده، از جمله انـسان، دو کرومـوزوم X را بـه ارث می‌برند، یک کروموزوم X در هر سلول تقریباً به‌طـور کامـل در طول دوران جنینی غیرفعال می‌شود. درنتیجه، سلول‌های افراد نـر و مـاده دارای مقـدار (دُز) مـشابهی از لوکـوس‌هـای ژنـی موجـود بـر کروموزوم X هستند (یک کپی). کروموزوم X غیرفعال در هریـک از سلول‌های فرد ماده، متراکم شده و تبدیل به **جسم بار**[2] می‌شـود، کـه درون هستهٔ سلول قرار دارد. بیش‌تر ژن‌هایی که برروی جسم بار قـرار دارند بیان نمی‌شوند. در تخمدان‌ها، کروموزوم‌های جسم بار مجدداً در سلول‌هایی که تخمک را تولید می‌کنند فعال می‌شوند، بنابراین هریک از گامت‌های فرد ماده دارای یک کروموزوم X فعال است.

1- Duchenne muscular dystrophy

2- Barr body

اگر یک فرد ماده برای صفتی وابسته به جنس هتروزیگوس باشد، تقریباً نصف سلول‌های وی یک الل و نصف دیگر الل دیگر را بیان می‌کنند. **شکل ۸ - ۱۵** چگونگی تأثیر موزائیسم را برروی یک گربهٔ خالدار نشان می‌دهد. در انسان‌ها، موزائیسم در یک الل جهش‌یافتهٔ مغلوب وابسته به جنس که مانع تکوین غدد عرق می‌شود مشاهده شده است. خانمی که برای این صفت هتروزیگوس است دارای پوستی است که قسمت‌هایی از آن دارای غدد عرق و قسمت‌هایی از آن فاقد غدد عرقی هستند.

غیرفعال شدن کروموزوم X به همراه تغییراتی در مولکول DNA است، مثل اتصال گروه‌های متیل ($-CH_3$) به یکی از بازهای آلی نیتروژن‌دار نوکلئوتیدهای DNA (اثر تنظیمی DNAی متیل‌دار شده در فصل ۱۸ بحث خواهد شد). ناحیهٔ خاصی از کروموزوم X، حاوی برخی ژن‌های دخیل در فرایند غیرفعال‌سازی است. این دو ناحیه (بر روی هر کروموزوم یک ناحیه) در هر سلول در یک مرحلهٔ ابتدایی از تکوین جنینی، مختصراً با یکدیگر در ارتباطند. یکی از این ژن‌ها به نام *XIST* (مخفف رونوشت خاص کروموزوم X غیرفعال[3]) تنها برروی کروموزوم جسم بار، فعال است. ظاهراً تعداد زیادی از کپی‌های RNAای که از روی این ژن ساخته می‌شوند، به همین کروموزوم X متصل می‌شوند و به‌تدریج آن را می‌پوشانند. ظاهراً میانکنش این RNA با کروموزوم، غیرفعال‌سازی X را آغاز می‌کند و فرآورده‌های RNAای سایر ژن‌های نزدیک آن بر روی کروموزوم X به تنظیم این فرایند کمک می‌کنند.



شکل ۸ - ۱۵ غیرفعال شدن کروموزوم X و گربهٔ خال‌دار (tortoiseshell cat). *ژن خال‌دار بودن برروی کروموزوم X واقع شده است و برای داشتن فنوتیپ خال‌دار وجود دو الل مختلف الزامی است، یکی برای رنگ نارنجی و دیگری برای رنگ سیاه. در حالت طبیعی، تنها ماده‌ها می‌توانند هر دو الل را داشته باشند زیرا فقط آنها دو کروموزوم X دارند. اگر گربهٔ ماده‌ای برای ژن رنگ مو هتروزیگوس باشد به‌صورت خال‌دار درمی‌آید. قسمت‌های نارنجی مربوط به تجمع سلول‌هایی است که در آنها کروموزوم دارای الل نارنجی فعال است و قسمت‌های سیاه مربوط به تجمع سلول‌هایی است که در آنها کروموزوم X حاوی الل سیاه فعال می‌باشد. (گربه‌های کالیکو [Calico] همچنین دارای قسمت‌های سفیدی نیز هستند که توسط یک ژن دیگر رمز می‌شود.)*

یک متخصص ژنتیک انگلیسی به‌نام مری لیون[1] اظهار داشت که هنگام غیر فعال شدن کروموزوم X، انتخاب اینکه کدام‌یک از کروموزوم‌های X تبدیل به جسم بار شوند، در هریک از سلول‌های جنینی به‌صورت تصادفی و مستقل انجام می‌شود. درنتیجه، افراد ماده به‌صورت *موزائیکی*[2] از دو نوع سلول هستند: یک سری آنهایی که دارای کروموزوم X پدری فعال هستند و دستهٔ دیگر، گروهی که دارای کروموزوم X مادری فعال می‌باشند. پس از اینکه کروموزوم X در یک سلول خاص غیرفعال می‌شود، تمام سلول‌های حاصل از میتوز این سلول نیز دارای جسم بار مشابهی خواهند شد. بنابراین

پرسش‌های مبحث ۲-۱۵

۱. یک مگس سرکهٔ مادهٔ چشم‌سفید با یک نر چشم‌قرمز آمیزش می‌کنند. نسبت ژنوتیپی و فنوتیپی زاده‌ها را پیش‌بینی کنید.

۲. تیم (Tim) و رودا (Rhoda) هیچ‌کدام دیستروفی عضلانی دوشن ندارند اما پسر اول آنها این مشکل را دارد. احتمال اینکه فرزند دوم بیمار باشد چقدر است؟ اگر فرزند دوم پسر باشد این احتمال چقدر است؟ اگر دختر باشد چقدر؟

۳. **ارتباط دهید.** آنچه که در مورد الل‌های غالب و مغلوب در مبحث ۱-۱۴ آموختید را مطالعه کنید. اگر یک اختلال توسط یک الل غالب وابسته به X ایجاد شود، الگوی توارث آن با آنچه که در مورد اختلالات مغلوب وابسته به X دیدیم، چه تفاوتی دارد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Mary Lyon
2- Mosaic
3- **X-in**active **s**pecific **t**ranscript

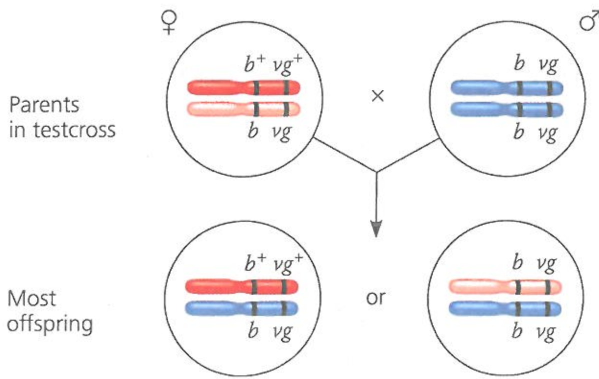
۱۵-۳ ژن‌های پیوسته تمایل دارند باهم به ارث برسند زیرا آنها نزدیک به هم و برروی یک کروموزوم واقع شده‌اند

تعداد ژن‌های موجود در یک سلول به مراتب بیشتر از تعداد کروموزوم‌های آن است؛ درحقیقت، هر کروموزوم دارای صدها یا هزاران ژن است. به ژن‌هایی که در کنار هم برروی یک کروموزوم واقع شده‌اند و با هم به ارث می‌رسند، **ژن‌های پیوسته**[1] می‌گویند. (توجه داشته باشید که ژن *وابسته به جنس* ، ژن منفردی است که روی یک کروموزوم جنسی قرار دارد و ژن‌های *پیوسته*، دو یا تعداد بیشتری ژن بر روی یک کروموزوم هستند که تمایل دارند با یکدیگر به ارث برسند.) هنگامی‌که متخصصان علم ژنتیک برروی ژن‌های پیوسته تحقیق می‌کنند، حاصل آمیزش‌ها، از قانون جورشدن مستقل ژن‌های مندل تبعیت نمی‌کنند.

وراثت ژن‌های پیوسته چگونه است؟

برای بررسی چگونگی وراثت ژن‌های پیوسته به یکی دیگر از آزمایش‌های مورگان در دروزوفیلا می‌پردازیم. صفات رنگ بدن و طول بال‌ها، هرکدام دارای دو فنوتیپ متفاوت می‌باشند. حالت وحشی مگس‌ها دارای بدنی به‌رنگ خاکستری و بال‌هایی با اندازهٔ معمولی هستند. مورگان آزمایش خود را طوری طراحی کرده بود، که از طریق آمیزش، علاوه بر این مگس‌ها، مگس‌هایی با دو جهش به‌وجود آورد که دارای بدن‌های سیاه‌رنگ و بال‌های بسیار کوتاه‌تر از بال‌های طبیعی (بال‌های تحلیل‌رفته) بودند. این الل‌های جهش‌یافته، نسبت به الل‌های نوع وحشی مغلوب هستند و هیچ‌یک بر روی کروموزوم جنسی قرار ندارند. مورگان در بررسی این دو ژن، آمیزش‌های نشان داده شده در **شکل ۹-۱۵** را انجام داد. در آزمایش اول، نسل P آمیزش داده شدند و مگس‌های دی‌هیبرید F_1 به‌وجود آمدند. آزمایش دوم یک آمیزش آزمون بود.

در مگس‌های حاصله، نسبت صفات نسل P (فنوتیپ‌های والدی) بسیار بیشتر از حالتی است که در صورت جور شدن مستقل این دو ژن انتظار می‌رفت. بنابراین مورگان این طور نتیجه‌گیری کرد که رنگ بدن و اندازهٔ بال معمولاً با یکدیگر و به صورت ترکیبات خاص (والدی) به ارث می‌رسند، زیرا ژن‌های این دو صفت نزدیک یکدیگر و بر روی یک کروموزوم قرار دارند:



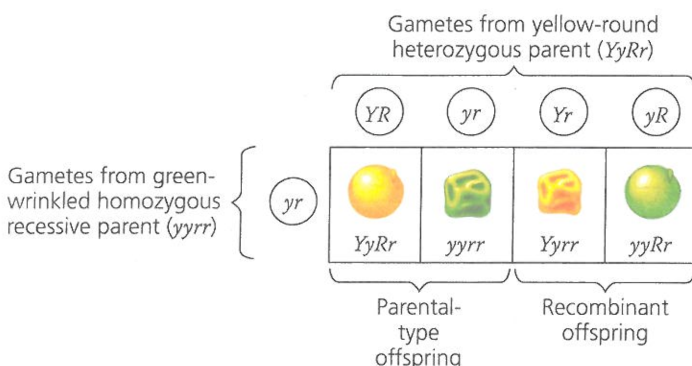
اما، همان‌طور که شکل ۹-۱۵ نشان می‌دهد، فنوتیپ‌های غیر والدی نیز در آزمایش‌های مورگان تولید شدند، که پیشنهاد می‌کند الل‌های رنگ بدن و اندازهٔ بال همواره به‌طور ژنتیکی پیوسته نیستند. برای درک این نتیجه‌گیری، ما نیاز داریم تا **نوترکیبی ژنتیکی** را بیش‌تر بررسی کنیم.

نوترکیبی ژنتیکی و پیوستگی

در فصل ۱۳ آموختید که میوز و لقاح تصادفی باعث ایجاد تنوع ژنتیکی در فرزندان جاندارانی می‌شوند که تولیدمثل جنسی دارند. دراینجا به بررسی اساس کروموزومی نوترکیبی براساس یافته‌های مندل و مورگان می‌پردازیم.

نوترکیبیِ ژن‌های غیر پیوسته: جورشدن مستقل کروموزوم‌ها

مندل دریافت که در آمیزش‌هایی که دو صفت را دنبال می‌کند، بعضی از زاده‌ها دارای ترکیبی از صفات هستند که در هیچ‌یک از دو والد یافت نمی‌شود. برای مثال، می‌توان به بررسی آمیزش گیاه نخودی با دانه‌های زرد و صاف که برای هر دو صفت هتروزیگوس است (*YyRr*)، با گیاه دانه‌سبز و چروکیده (که برای هر دو صفت هوموزیگوس است، *yyrr*) توسط مربع پانت پرداخت:

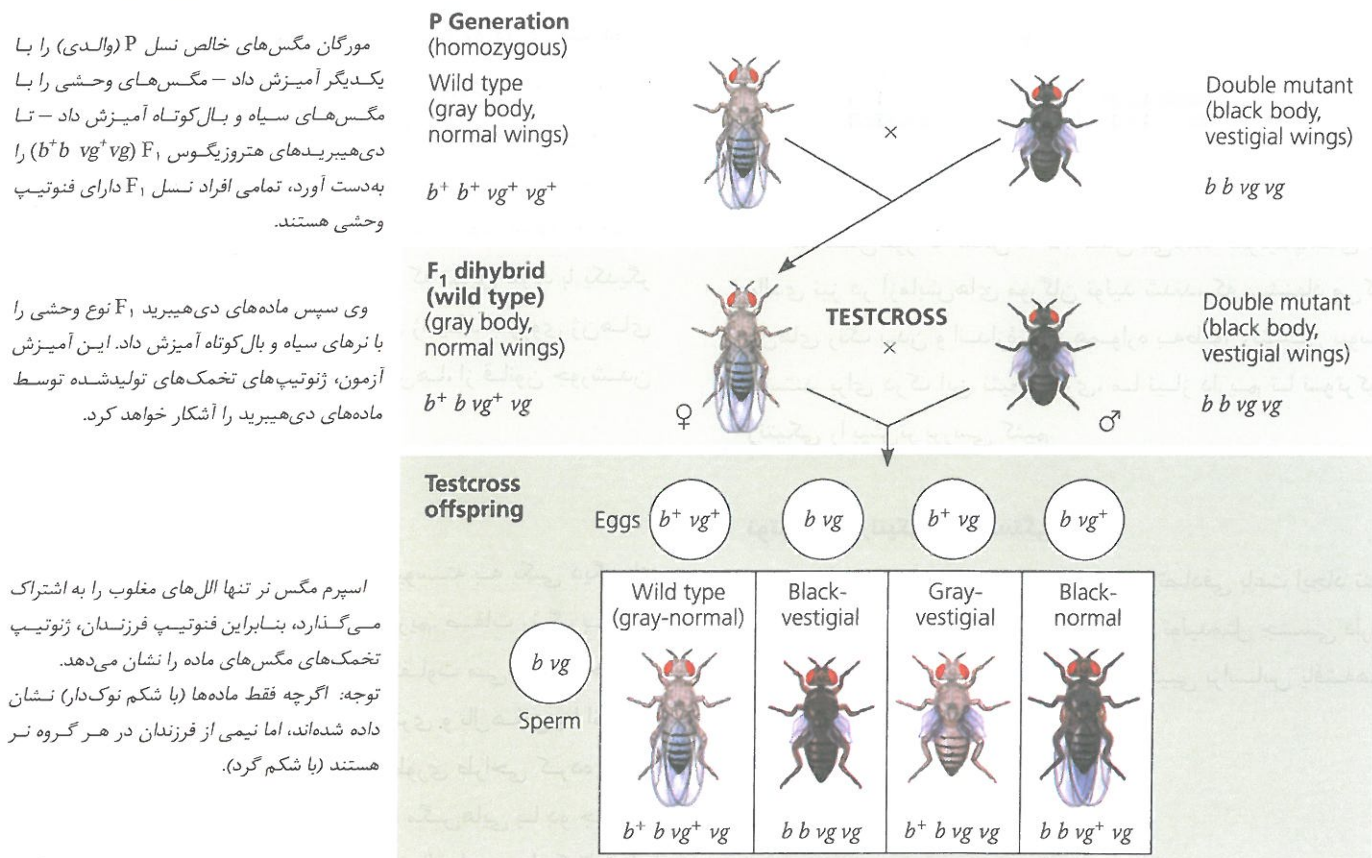


1- Linked genes

شکل ۹– ۱۵ تحقیق

پیوستگی بین دو ژن چطور بر روی وراثت آن صفات تأثیر می‌گذارد؟

آزمایش: مورگان می‌خواست بداند که آیا ژن‌های رنگ بدن و اندازهٔ بال از نظر ژنتیکی به‌هم پیوسته‌اند، و اگر این‌طور است، این امر چگونه بر روی وراثت آنها تأثیر می‌گذارد. الل‌های رنگ بدن، b^+ (خاکستری) و b (سیاه) هستند، و الل‌های اندازهٔ بال، vg^+ (طبیعی) و vg (تحلیل‌رفته) هستند.



نسبت‌های پیش‌بینی‌شده

اگر ژن‌ها روی کروموزوم‌های مختلفی قرار داشته باشند:	1	1	1	1
اگر ژن‌ها روی یک کروموزوم قرار داشته باشند و الل‌های والدی همواره با هم به ارث برسند:	1	1	0	0
نتایج:	965	944	206	185

نتیجه‌گیری: از آن‌جایی که بیش‌تر فرزندان دارای یکی از فنوتیپ‌های والدی (نسل P) بودند، مورگان استنباط کرد که ژن‌های رنگ بدن و اندازهٔ بدن، از نظر ژنتیکی به‌هم پیوسته بوده و روی یک کروموزوم قرار دارند. اما، تولید تعداد نسبتاً کمی از فرزندان با فنوتیپ غیر والدی نشان می‌دهد که برخی مکانیسم‌ها، گاهی پیوستگی بین الل‌های خاصی از ژن‌های روی یک کروموزوم را قطع می‌کنند.

منبع:

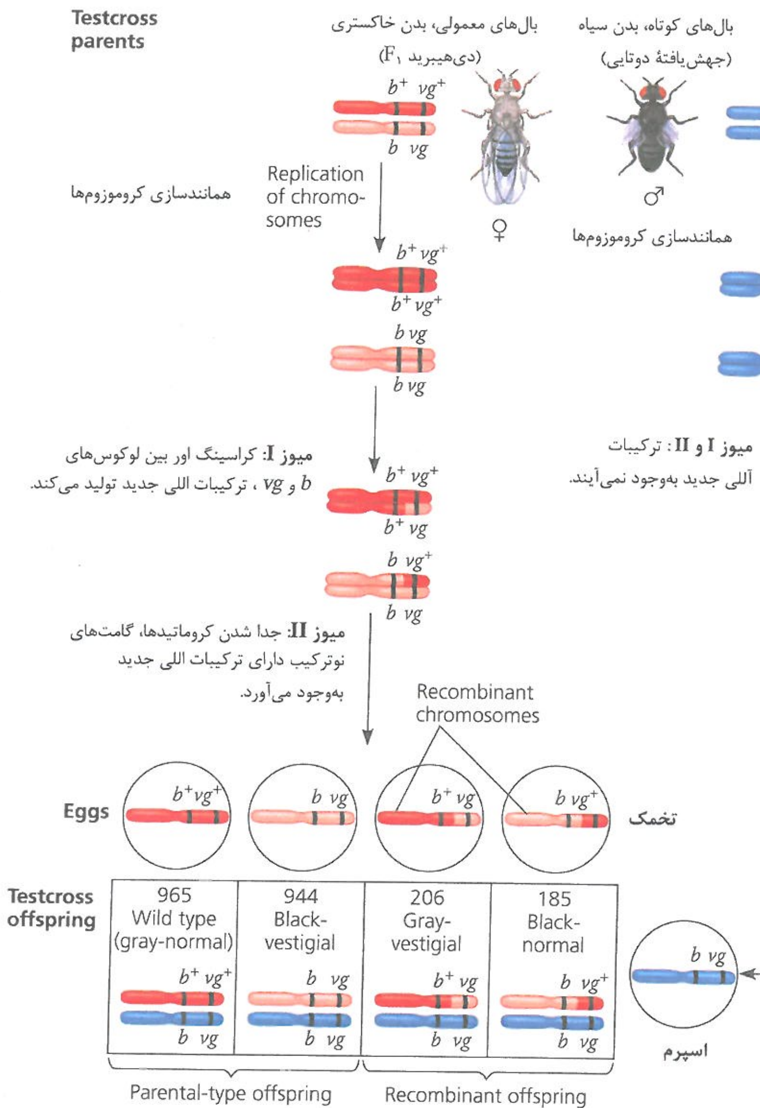
T. H. Morgan and C.J. Lynch, The linkage of two *factors in Drosaphila* that are not sex-linked, Biological Bulletin 23:174-182(1912).

چه می‌شد اگر؟ **اگر مگس‌های والدی (نسل P) برای بدن خاکستری با بال‌های کوتاه و بدن سیاه با بال‌های معمولی خالص بودند، کدام گروه فنوتیپی بیشترین سهم را در بین فرزندان آمیزش آزمون داشت؟**

به این مربع پانت توجه کنید. پیش‌بینی می‌شود که یک چهارم از فرزندان، فنوتیپی را به ارث برند که مشابه یکی از والدین باشد. به این فرزندان، **نوع والدی**[1] می‌گویند. اما دو حالت فنوتیپی غیروالدی نیز در میان زاده‌ها مشاهده می‌شوند. از آن‌جایی‌که این زاده‌ها دارای ترکیب جدیدی از رنگ و حالت دانه هستند، به آنها **انواع نوترکیب**[2] یا **نوترکیب**[3] می‌گویند. هنگامی‌که مانند این مثال، ۵۰٪ زاده‌ها نوترکیب باشند متخصصان علم ژنتیک می‌گویند فراوانی نوترکیبی ۵۰٪ است. نسبت فنوتیپی پیش‌بینی‌شده در میان زاده‌ها، مشابه آن‌چه که مندل در آمیزش $YyRr \times yyrr$ دست یافت، می‌باشد.

فراوانی ۵۰٪ نوترکیبی، برای هر دو ژنی که برروی دو کروموزوم متفاوت قرار دارند، مشاهده می‌شود. پایهٔ فیزیکیِ نوترکیبی در میان ژن‌های غیر پیوسته، جهت‌گیری تصادفی کروموزوم‌ها در متافاز I میوز است که منجر به جور شدن مستقل ژن‌های غیر پیوسته می‌شود (شکل‌های ۲– ۱۵ و ۱۰– ۱۳ را ببینید).

1- Parental type
2- Recombinant type
3- Recombinant



▶ **شکل ۱۰-۱۵ اساس کروموزومی برای نوترکیبیِ ژن‌های پیوسته.** *در این شکل، آمیزش آزمون موجود در شکل ۹-۱۵ را بازسازی کرده و به بررسی کروموزوم‌ها و نیز ژن‌ها می‌پردازیم. کروموزوم‌های مادری را با رنگ‌های قرمز و صورتی نشان داده‌ایم تا بتوانیم کروموزوم‌های همتا را از هم تفکیک کنیم. از آن‌جایی‌که کراسینگ اور بین لوکوس b و vg، تنها در برخی از سلول‌های مولد اووم (تخمک) اتفاق می‌افتد، بنابراین تعداد کمتری تخمک نوترکیب نسبت به تخمک والدی ایجاد می‌شود. لقاح تخمک‌ها با اسپرمی با ژنوتیپ $b\ vg$، تعدادی زاده‌های نوترکیب ایجاد می‌کند. فراوانی نوترکیبی، درصد مگس‌های نوترکیب به کل مگس‌هاست.*

ترسیم کنید. ***مانند سؤال پایین شکل ۹-۱۵، فرض کنید مگس‌های والدی (نسل P) برای بدن خاکستری با بال‌های کوتاه و بدن سیاه با بال‌های طبیعی، خالص بودند. کروموزوم‌های هر چهار نوع تخمک احتمالی حاصل از ماده‌های F_1 را رسم کنید و کروموزوم‌های «والدی» یا «نوترکیب» را مشخص نمایید.***

نوترکیبی ژن‌های پیوسته: کراسینگ اور

حال دوباره به اتاق مگس‌های مورگان باز می‌گردیم تا ببینیم چگونه می‌توان نتایج حاصل از آمیزش آزمون دروزوفیلاها در شکل ۹-۱۵ را توجیه کرد. به‌یاد آورید که بیشتر فرزندان حاصل از آمیزش آزمون، دارای فنوتیپی مشابه والدین خود بودند. این مطلب پیشنهاد می‌کرد که این دو ژن برروی یک کروموزوم قرار دارند، زیرا فراوانی بیش از ۵۰٪ برای فنوتیپ‌های والدی نشان می‌دهد که این دو ژن پیوسته هستند. اما حدود ۱۷٪ از فرزندان نوترکیب بودند.

پس از بررسی این نتایج، مورگان پیشنهاد داد که گاهی واقعه‌ای این اتصال فیزیکی بین ژن‌های واقع برروی یک کروموزوم را قطع می‌کند. آزمایش‌های بعدی نشان داد که این رویداد که امروزه **کراسینگ اور**[1] نام دارد، عامل نوترکیبی در ژن‌های پیوسته است. در کراسینگ اور، که در هنگام جفت شدن کروموزوم‌ها در پروفاز میوز I اتفاق می‌افتد، یک کروماتید مادری و یک کروماتید پدری در مکانی مقابل هم شکسته شده و مجدداً متصل می‌شوند (شکل ۱۱-۱۳ را ببینید). هر بار که کراسینگ اور رخ می‌دهد، قسمت انتهایی دو کروماتیدهای غیرخواهری با هم جابه‌جا می‌شوند. **شکل ۱۰-۱۵** نشان می‌دهد که چگونه کراسینگ اور در مگس‌های مادهٔ دورگه موجب ایجاد تخمک نوترکیب و درنتیجه، فرزندان نوترکیب در آمیزش آزمون مورگان می‌شود. بیشتر

1- Crossing over

تخمک‌ها حاوی ژنوتیپ والدی برای رنگ بدن و اندازهٔ بال هستند ($b^+ vg^+$ یا $b\ vg$)، اما برخی از گامت‌ها دارای کروموزوم‌های نوترکیب می‌باشند ($b^+ vg$ یا $b\ vg^+$). لقاح این گونه‌های مختلف تخمک با اسپرم هوموزیگوس مغلوب ($b\ vg$) موجب ایجاد ۱۷٪ زاده‌هایی می‌شود که فنوتیپ غیروالدی دارند و این فنوتیپ‌های نوترکیب، ترکیبات اللی را نشان می‌دهند که قبلاً در هیچ‌یک از والدین نسل P وجود نداشتند.

ترکیبات جدید اللی: تنوع برای انتخاب طبیعی

تکامل در فصل ۱۳ آموختید که رفتار فیزیکی کروموزوم‌ها در طی میوز چگونه باعث ایجاد تنوع در فرزندان می‌شود. هر جفت کروموزوم همتا، مستقل از سایر جفت کروموزوم‌های همتا، در متافاز I در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند، و قبل از آن در طی پروفاز I، با یکدیگر کراسینگ اور انجام داده و بخش‌هایی از مادهٔ ژنتیکی مادری و پدری با یکدیگر مخلوط می‌شوند. در فصل ۱۴ آزمایش‌های ظریف مندل توضیح داده شدند. این آزمایش‌ها نشان دادند که رفتار ژن‌ها (یا الل‌های ژن‌ها) موجب تنوع در فرزندان می‌شود. اکنون، اگر این نظرات گوناگون را کنار یکدیگر قرار دهید متوجه می‌شوید که کروموزوم‌های نوترکیب حاصل از کراسینگ اور احتمالاً الل‌ها را در ترکیبات جدیدی کنار یکدیگر قرار می‌دهند، و رویدادهای بعدی میوز، ترکیبات گوناگونی از کروموزوم‌های نوترکیب را در بین گامت‌ها توزیع می‌کنند، مانند انواع جدیدی که در شکل‌های ۹-۱۵ و ۱۰-۱۵ می‌بینید. سپس لقاح تصادفی، تعداد ترکیبات گوناگون اللی که می‌توانند به‌وجود آیند را بیش‌تر افزایش می‌دهد.

این تنوع ژنتیکی فراوان، مادهٔ خامی را فراهم می‌کند که انتخاب طبیعی می‌تواند روی آن عمل کند. اگر این ترکیبات خاص اللی، صفاتی را به موجودات اعطا کنند که موجب سازگاری بهتر آنها با یک محیط مشخص شوند، انتظار می‌رود موجودات دارای این ژنوتیپ‌ها، بهتر رشد کرده و فرزندان بیشتری تولید کنند، که این امر موجب ماندگاری مادهٔ ژنتیکی آنها می‌شود. البته در نسل بعدی، این الل‌ها از نو با هم مخلوط می‌شوند. در نهایت، میانکنش بین محیط و ژنوتیپ تعیین خواهد کرد که کدام ترکیبات ژنتیکی در طول زمان باقی بمانند.

نقشه‌یابی فاصلهٔ بین ژن‌ها با استفاده از داده‌های نوترکیبی: تحقیق علمی

کشف پیوستگی ژن‌ها و نوترکیبی بر مبنای کراسینگ اور موجب شد تا یکی از دانشجویان مورگان، به‌نام آلفرد اچ. استارتونت[1] روشی را برای تهیهٔ **نقشهٔ ژنتیکی**[2] (لیستی مرتب‌شده از لوکوس‌های ژنی برروی یک کروموزوم خاص) ابداع کند.

استارتونت فرض کرد که فراوانی نوترکیبی که در طی آزمایش‌هایی مثل شکل ۹- ۱۵ و ۱۰- ۱۵ محاسبه گردید، بستگی به فاصلهٔ ژن‌ها برروی کروموزوم دارد. وی فرض کرد که کراسینگ اور یک پدیدهٔ تصادفی است. بنابراین احتمال کراسینگ اور در سراسر کروموزوم تقریباً یکسان است. براساس این فرضیات، استارتونت پیش‌بینی کرد که *هرچه فاصلهٔ دو ژن بیش‌تر باشد، احتمال وقوع کراسینگ اور بین آنها بیشتر بوده و بنابراین فراوانی نوترکیبی نیز بیش‌تر خواهد بود*. دلیل او ساده بود: هرچه فاصلهٔ دو ژن بیش‌تر باشد تعداد مکان‌هایی بین آنها که می‌تواند کراسینگ اور رخ دهد بیشتر است. با استفاده از داده‌های نوترکیبی که حاصل آمیزش‌های متعدد در مگس سرکه بود، استارتونت اقدام به تعیین موقعیت‌های نسبی ژن‌ها نسبت به یکدیگر برروی یک کروموزوم کرد (یعنی ژن‌ها را نقشه‌یابی کرد).

به نقشهٔ ژنتیکی که براساس فراوانی نوترکیبی ساخته شده باشد، **نقشهٔ پیوستگی**[3] می‌گویند. **شکل ۱۱- ۱۵** نقشهٔ پیوستگیِ سه ژن را نشان ۱۵می‌دهد: ژن رنگ بدن (b) و اندازهٔ بال (vg) در شکل ۱۰- ۱۵ نمایش داده شدند و ژن سوم *سینابار*[4] نام دارد (cn). سینابار یکی از ژن‌های دروزوفیلا است که بر رنگ چشم اثر دارد. فنوتیپ جهش‌یافته یا چشم‌های سینابار، دارای رنگ قرمز روشن‌تری از آن‌چه در حالت وحشی وجود دارد، هستند. فراوانی نوترکیبی بین cn و b ۹٪، بین cn و vg ۹/۵٪ و بین b و vg ۱۷٪ است. به بیان دیگر، فراوانی کراسینگ اور بین cn و b و بین cn و vg، نصف فراوانی کراسینگ اور بین b و vg است. تنها، نقشه‌ای که cn را تقریباً در وسط فاصلهٔ بین b و vg قرار دهد با این داده‌ها مطابقت دارد. برای اثبات این مطلب می‌توانید نقشه‌های دیگری رسم کنید. استارتونت فاصلهٔ بین ژن‌ها را با واحدی به‌نام **واحد نقشه**[5] مشخص کرد. یک واحد نقشه برابر است با فاصله‌ای که در آن، فراوانی کراسینگ اور ۱٪ باشد. امروزه به واحد نقشه به افتخار مورگان، **سانتی‌مورگان**[6] نیز می‌گویند.

1- Alfred H. Sturtevant
2- Genetic map
3- Linkage map
4- Cinnabar
5- Map units
6- CentiMorgan

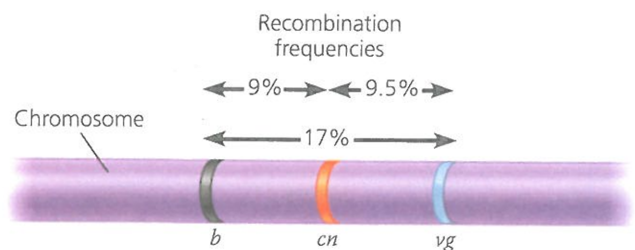
▶ شکل ۱۱-۱۵ **روش پژوهش**

ساختن نقشهٔ پیوستگی

کاربرد: یک نقشهٔ پیوستگی، وضعیت ژن‌ها را در یک کروموزوم نسبت به هم مشخص می‌کند.

تکنیک: نقشهٔ پیوستگی براساس این فرض است که احتمال وقوع کراسینگ اور بین دو ژن با افزایش فاصلهٔ آنها بیشتر می‌شود. فراوانی نوترکیبی‌هایی که برای تهیهٔ نقشهٔ پیوستگی استفاده می‌شوند، از بررسی آمیزش‌های متعدد حاصل می‌گردند، مانند مثالی که در شکل‌های ۹-۱۵ و ۱۰-۱۵ ملاحظه شد. فاصلهٔ بین ژن‌ها را با واحدی به‌نام واحد نقشه (سانتی‌مورگان) نشان می‌دهند؛ هر واحد نقشه معادل ۱٪ فراوانی نوترکیبی است. ژن‌ها براساس بهترین حالتی که با داده‌ها مطابقت داشته باشد، برروی یک کروموزوم مرتب می‌شوند.

نتایج: در این مثال، با توجه به فراوانی نوترکیبی بین سه ژن دروزوفیلا (b-cn۹٪، cn-vg۹/۵٪ و b-vg۱۷٪)، بهترین حالتی که می‌توان این ژن‌ها را مرتب کرد به این صورت است که cn تقریباً در وسط دو ژن دیگر قرار بگیرد.

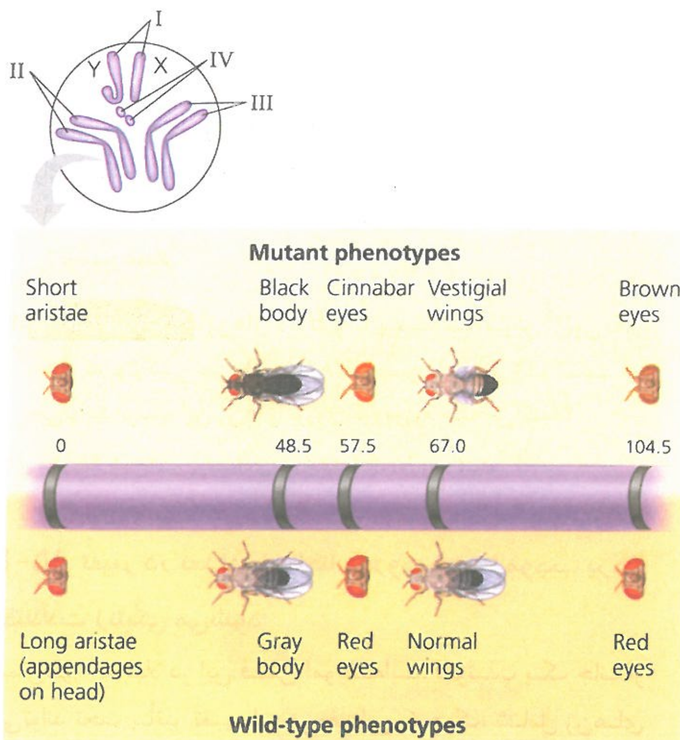


فراوانی نوترکیبی بین b-vg (۱۷٪) اندکی کمتراز مجموع فراوانی‌های b-cn و cn-vg (۱۸/۵% = ۹/۵ + ۹) است. علت این است که بین ژن‌های b و vg ممکن است کراسینگ‌اورهای مضاعف رخ دهد (یکی بین b و cn و دیگری بین cn و vg). کراس اور دوم اثر اولی را از بین می‌برد و بنابراین میزان فراوانی نوترکیبی مشاهده‌شده را بین b-vg کاهش می‌دهد، در صورتی که موجب افزایش فراوانی نوترکیبی بین جفت ژن‌های نزدیک‌تر می‌شود. مقدار ۱۸/۵٪ (۱۸/۵ واحد نقشه‌ای) نزدیک به فاصلهٔ واقعی بین این دو ژن است. بنابراین یک ژنتیک‌دان در ساخت نقشهٔ ژنتیکی فاصله‌های کوچک‌تر را با هم جمع می‌کنند.

در عمل، داده‌های حاصل بسیار پیچیده‌تر از آن‌چه شما در این مثال مشاهده کردید است. برای مثال، برخی از ژن‌ها برروی یک کروموزوم به‌قدری از هم دور هستند که درحقیقت وقوع کراسینگ اور قطعی است. میزان فراوانی نوترکیبی مشهود در آمیزش‌ها برای چنین ژن‌هایی، حداکثر می‌تواند ۵۰٪ باشد، و بنابراین نمی‌توان تشخیص داد که آیا ژن‌ها برروی دو کروموزوم متفاوت قرار دارند یا بر روی یک کروموزوم هستند. در این حالت، اتصال فیزیکی بین ژن‌های یک کروموزوم، در نتیجهٔ آمیزش‌های ژنتیکی منعکس نمی‌شود. با وجود اینکه ژن‌ها برروی یک کروموزوم قرار دارند و بنابراین *از لحاظ فیزیکی متصل‌اند*، اما *از لحاظ ژنتیکی جدا* به‌نظر می‌رسند؛ الل‌های این‌گونه ژن‌ها به‌صورت مستقل جور می‌شوند، مثل حالتی که ژن‌ها برروی دو کروموزوم متفاوت قرار دارند. درحقیقت امروزه ثابت شده است که ژن مربوط به دو صفت نخودفرنگی که مندل به بررسی آنها پرداخت (رنگ دانه و رنگ گلبرگ) برروی یک کروموزوم قرار دارند، اما فاصلهٔ بین آنها به‌حدی زیاد است که پیوستگی در آمیزش‌های ژنتیکی آنها مشهود نیست. ژن‌هایی که خیلی دور از هم قرار دارند را از طریق جمع‌کردن فراوانی‌های نوترکیبی از آمیزش‌هایی که هریک از این ژن‌های دور و تعدادی از ژن‌های بین آنها در آن دخالت دارند، نقشه‌یابی می‌کنند.

استارتونت و همکارانش توانستند با استفاده از اطلاعات نوترکیبی، تعداد زیادی از ژن‌های دروزوفیلا را نقشه‌یابی کرده و به‌طور خطی منظم کنند. آنها پی‌بردند که ژن‌ها به چهار گروه تقسیم می‌شوند. و از آنجایی‌که با اطلاعات حاصل از مشاهدات میکروسکوپی چهار جفت کروموزوم را در سلول‌های دروزوفیلا شناسایی کردند، این دسته‌بندی ژن‌ها مزید بر علت شد که ژن‌ها برروی کروموزوم‌ها قرار گرفته‌اند. هر کروموزوم از یک ردیف لوکوس‌های ژنی تشکیل شده است (**شکل ۱۲-۱۵**).

از آن‌جایی‌که نقشهٔ پیوستگی بر پایهٔ فراوانی‌های نوترکیبی



▶ شکل ۱۲-۱۵ **نقشهٔ ژن‌های پیوسته در یکی از کروموزوم‌های دروزوفیلا.** *این نقشهٔ ساده‌شده تنها تعدادی از ژن‌هایی که برروی کروموزوم II دروزوفیلا مشخص شده‌اند را نشان می‌دهد. عددی که در کنار هر لوکوس ژنی نوشته شده است مقدار واحد نقشه را بین آن ژن و لوکوس ژنی مربوط به آریستا (سمت چپ) نشان می‌دهد. توجه کنید که بیشتر از یک ژن می‌تواند بر یک فنوتیپ اثر کند مثل رنگ چشم. همچنین به این نکته توجه داشته باشید که برخلاف کروموزوم‌های اتوزومی (II-IV) که همتا دارند، هریک از کروموزوم‌های X و Y (I) دارای شکل منحصربه‌فردی هستند.*

است، تنها می‌تواند یک تصویر تقریبی از کروموزوم به ما بدهد. درحقیقت، فراوانی کراسینگ اور در سراسر طول کروموزوم یکسان نیست و بنابراین واحدهای نقشه‌ای برابر فاصلهٔ حقیقی نیست (برای مثال در مقیاس نانومتر). نقشهٔ پیوستگی در حقیقت ترتیب ژن‌ها را برروی کروموزوم نشان می‌دهد و جای دقیق آنها را مشخص نمی‌کند. سایر روش‌ها، متخصصان علم ژنتیک را قادر ساختند تا بتوانند **نقشه‌های سیتوژنتیک**[1] کروموزوم‌ها را رسم کنند که مکان ژن‌ها را با توجه به خصیصه‌های کروموزومی مشخص می‌نمایند، مثل نوارهای رنگی که می‌توان آنها را توسط میکروسکوپ مشاهده نمود. نقشه‌های نهائی که در فصل ۲۱ به بررسی آنها خواهیم پرداخت فاصلهٔ فیزیکی لوکوس‌های ژنی را برحسب نوکلئوتیدهای DNA بیان می‌کنند. اگر نقشهٔ پیوستگی را با نقشهٔ فیزیکی و یا نقشهٔ سیتوژنتیک مقایسه کنیم متوجه خواهیم شد که ترتیب لوکوس‌های ژنی در همهٔ این نقشه‌ها یکسان است اما فاصلهٔ ژن‌ها یکسان نیست.

پرسش‌های مبحث ۳–۱۵

۱. هنگامی‌که دو ژن برروی یک کروموزوم قرار دارند، اساس فیزیکی تولید زاده‌های نوترکیب در آمیزش آزمون بین والدین هتروزیگوس و دارای جهش مضاعف مغلوب چیست؟

۲. برای هریک از زاده‌های حاصل از آمیزش آزمون موجود در شکل ۹- ۱۵، رابطهٔ بین فنوتیپ زاده‌ها و الل‌های داده شده توسط والد ماده را توضیح دهید.

۳. **چه می‌شد اگر؟** ژن‌های A، B و C پیوسته‌اند. آمیزش آزمون نشان داده که نوترکیبی بین A و B، ۲۸٪ و بین A و C، ۱۲٪ است. آیا می‌توانید ترتیب این ژن‌ها را برروی کروموزوم مشخص کنید؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

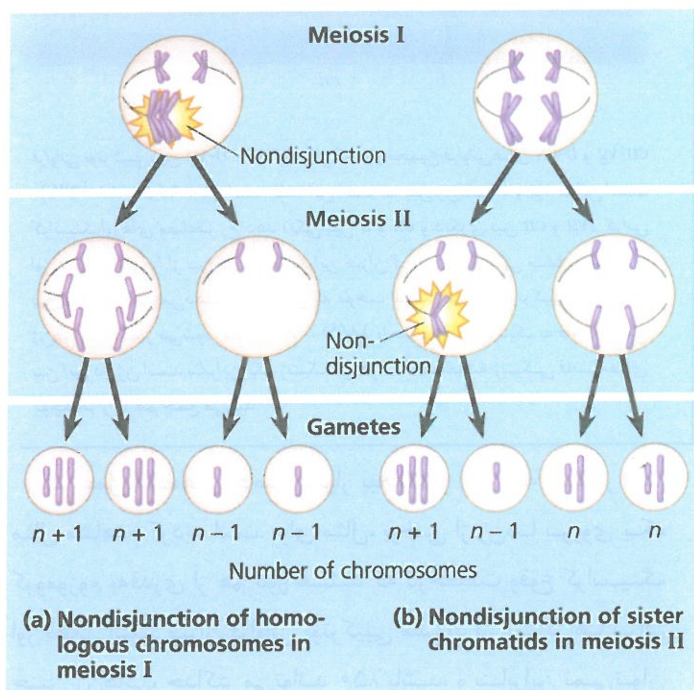
۴–۱۵ تغییر در تعداد یا ساختار کروموزوم‌ها موجب برخی اختلالات ژنتیکی می‌شود

همان‌طور که قبلاً در این فصل آموخته‌اید، فنوتیپ یک جاندار می‌تواند تحت تأثیر تغییرات در مقیاس کوچک، شامل ژن‌های منفرد، قرار گیرد. جهش‌های تصادفی، منبع تمامی الل‌های جدید هستند، که باعث ایجاد صفات فنوتیپی جدید می‌شوند.

تغییرات کروموزومی در مقیاس بزرگ نیز می‌توانند بر روی فنوتیپ یک جاندار تأثیر بگذارند. اختلالات فیزیکی و شیمیایی، و همچنین خطاهای میوزی از عواملی هستند که می‌توانند موجب تخریب‌های جدی در کروموزوم‌ها و یا حتی تغییر در تعداد آنها شوند. تغییرات کروموزومی شدید گاهی می‌توانند موجب سقط خودبه‌خودی جنین شوند. همچنین افرادی که با این اختلالات ژنتیکی به‌دنیا می‌آیند ناهنجاری‌های فراوانی دارند. در گیاهان این اختلالات ژنتیکی بسیار کمتر از جانوران موجب بروز ناهنجاری می‌شوند.

تعداد غیرطبیعی کروموزوم‌ها

در شرایط ایده‌آل، دوک تقسیم میوز، کروموزوم‌ها را بدون خطا بین دو سلول خواهری توزیع می‌کند. اما گاهی اوقات واقعه‌ای به‌نام **باهم ماندن کروموزوم‌ها**[2] اتفاق می‌افتد. به این ترتیب، در طی میوز I، کروموزوم‌های همتا از هم جدا نمی‌شوند و یا کروماتیدهای خواهری در میوز II نمی‌توانند از هم جدا شوند. در این حالت، یک گامت دو عدد و گامت دیگر هیچ نسخه‌ای از این کروموزوم را دریافت نمی‌کند (**شکل ۱۳- ۱۵**). معمولاً سایر کروموزوم‌ها به‌طور طبیعی از هم جدا می‌شوند.



شکل ۱۳- ۱۵ با هم ماندن کروموزوم‌ها در میوز. *گامت‌هایی با تعدادکروموزوم غیر طبیعی می‌توانند حاصل میوز I یا II باشند. به منظور آسان‌تر کردن مطلب، هاگ‌های تشکیل شده در گیاهان در طی میوز نشان داده نشده‌اند. در نهایت، هاگ‌ها گامت‌هایی را به‌وجود می‌آورند که دارای نقایص نشان‌داده شده هستند. (شکل ۶-۱۳ را ببینید.)*

1- Cytogenetic maps

2- Nondisjunction

اگر این گامت غیرطبیعی با یک گامت سالم ترکیب شود، فرد حاصل دارای تعداد غیرطبیعی از این کروموزوم خاص خواهد بود، به این حالت **انیوپلوئیدی**[1] می‌گویند. اگر سه کپی از یک کروموزوم در تخم لقاح‌یافته وجود داشته باشد (یعنی مجموع کروموزوم‌های سلول ۱+ ۲n باشد)، آن‌گاه این سلولِ انیوپلوئید، برای آن کروموزوم **تری‌زوم**[2] است. اگر یک کروموزوم کم باشد (یعنی سلول ۱- ۲n کروموزوم داشته باشد)، آن‌گاه سلول انیوپلوئید برای آن کروموزوم، **مونوزوم**[3] است. تقسیم میتوز متعاقباً این ناهنجاری را به سلول‌های جنینی حاصل منتقل می‌کند. اگر جاندار زنده بماند معمولاً یک سری علائم را از خود نشان می‌دهد که به علت دُز غیرطبیعی ژن‌های مربوط به کروموزوم اضافی یا حذف‌شده است. با هم ماندن کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز نیز اتفاق می‌افتد. اگر این اتفاق در اوایل مراحل جنینی رخ دهد، آن‌گاه انیوپلوئیدی از طریق میتوز به سلول‌های زیادی می‌رسد و احتمال ایجاد تأثیرات قابل توجه در جاندار زیاد است.

برخی از جانداران دارای بیش از دو سری کامل کروموزوم هستند. لغت عمومی برای این حالت کروموزومی، **پلی‌پلوئیدی**[4] است، و در حالت‌های مشخص، لغات *تریپلوئید* (۳*n*) و *تتراپلوئید* (۴*n*) به‌ترتیب به‌معنای سه یا چهار دستهٔ کروموزومی به‌کار می‌روند. یکی از راه‌های ایجاد سلول تریپلوئید، لقاح یک تخمک دیپلوئید غیرطبیعی که تمام کروموزوم‌های آن با هم مانده‌اند با یک اسپرم طبیعی است. یک مثال برای حالتی تصادفی که موجب ایجاد تتراپلوئیدی می‌شود، عدم توانایی زیگوت ۲*n* در تقسیم شدن پس از مضاعف شدن کروموزوم‌ها است. متعاقب این اتفاق، تقسیمات میتوزی طبیعی موجب تولید جنین ۴*n* می‌شوند.

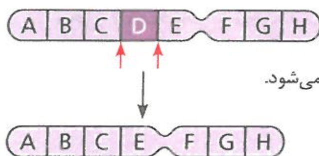
پلی‌پلوئیدی بیشتر در فرمانروی گیاهان وجود دارد. همان‌طوری‌که در فصل ۲۴ خواهیم دید، ایجاد خودبه‌خودی افراد پلی‌پلوئید نقش مهمی در تکامل گیاهان دارد. در فرمانروی جانوران، گونه‌های پلی‌پلوئید بسیار کمتر هستند، اگرچه در میان ماهی‌ها و دوزیستان مشاهده می‌شوند. در کل، ظاهر افراد پلی‌پلوئید طبیعی‌تر از افراد انیوپلوئید است. یک کروموزوم اضافی (یا کم) ظاهراً تعادل ژنتیکی را بیش از داشتن یک دست اضافی کروموزوم به‌هم می‌زند.

تغییر در ساختار کروموزوم‌ها

شکسته شدن کروموزوم می‌تواند منجر به ایجاد چهار حالت تغییر در ساختار کروموزوم شود که در **شکل ۱۴- ۱۵** نمایش داده شده‌اند. **حذف**[5] هنگامی اتفاق می‌افتد که قطعه‌ای از کروموزوم از بین برود. کروموزومی که دچار چنین حالتی شود دسته‌ای از ژن‌های خاص را نخواهد داشت. (اگر سانترومر حذف شود، کل کروموزوم از دست خواهد رفت.) در برخی از موارد، قسمت «حذف»شده ممکن است به‌عنوان یک قسمت اضافی به کروماتید خواهری متصل شود و

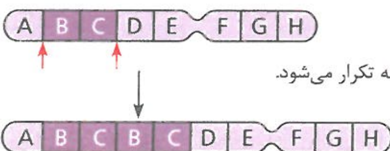
شکل ۱۴- ۱۵ تغییر در ساختار کروموزوم‌ها. *پیکان‌های عمودی نشان‌دهندهٔ شکست در کروموزوم هستند. قسمت‌هایی که با رنگ ارغوانی پررنگ مشخص شده‌اند دچار بازآرایی شده‌اند.*

(a) Deletion



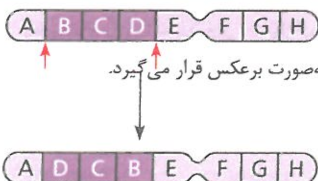
(**a**) در **حذف**، قطعه‌ای از کروموزوم حذف می‌شود.

(b) Duplication



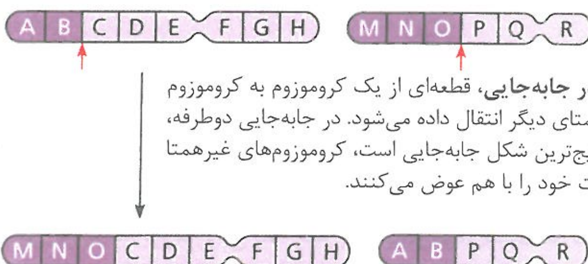
(**b**) در **مضاعف شدن**، یک قطعه تکرار می‌شود.

(c) Inversion



(**c**) در **واژگونی**، یک قطعه در کروموزوم به‌صورت برعکس قرار می‌گیرد.

(d) Translocation



(d) **در جابه‌جایی**، قطعه‌ای از یک کروموزوم به کروموزوم غیرهمتای دیگر انتقال داده می‌شود. در جابه‌جایی دوطرفه، که رایج‌ترین شکل جابه‌جایی است، کروموزوم‌های غیرهمتا قطعات خود را با هم عوض می‌کنند.

جابه‌جایی غیردوطرفه نیز ممکن است روی دهد و طی آن یک کروموزوم بدون دریافت هیچ قطعه‌ای، قطعهٔ خود را به کروموزوم غیرهمتای دیگر منتقل می‌کند.

1- Aneuploidy
2- Trisomic
3- Monosomic
4- Polyploidy
5- Deletion

یک، **مضاعف شدگی**[1] ایجاد کند. همچنین این قطعهٔ حذف‌شده می‌تواند به یک کروماتید غیرخواهری از کروموزوم همتا متصل شود. اما در این حالت قطعات مضاعف‌شده ممکن است مشابه نباشند زیرا کروموزوم‌های همتا می‌توانند الل‌های متفاوتی از ژن‌های مشخصی را حمل کنند. قطعهٔ کروموزومی ممکن است مجدداً به کروموزوم اصلی خود متصل شود اما به‌صورت برعکس، به این حالت **واژگونی**[2] می‌گویند. و حالت چهارم این است که قطعهٔ کروموزومی به یک کروموزوم غیرهمتا متصل شود، به این حالت **جابه‌جایی**[3] می‌گویند.

پدیدهٔ حذف و مضاعف شدن بیشتر در طی میوز اتفاق می‌افتند. در حین کراسینگ اور، گاهی کروماتیدهای غیرخواهری شکسته شده و در محل «ناصحیحی» مجدداً متصل می‌شوند. بنابراین یکی از گامت‌ها بیشتر از آنچه می‌بایست، ژن دریافت می‌کند. حاصل چنین کراسینگ اور نابرابری[4]، ایجاد یک کروموزوم با حذف و یک کروموزوم دیگر با مضاعف شدن است.

در یک جنین دیپلوئید که برای یک کروموزوم با یک حذف بزرگ هوموزیگوس است (یا جنین پسری که دارای یک کروموزوم X با یک حذف بزرگ است) معمولاً فاقد یک سری از ژن‌های ضروری می‌باشد، حالتی که معمولاً کشنده است. همچنین مضاعف شدن و جابه‌جایی نیز می‌توانند اثرات زیان‌بخشی داشته باشند. در جابه‌جایی دوطرفه، که قطعات کروموزومی بین کروموزوم‌های غیرهمتا جابه‌جا می‌شوند، و در واژگونی، تعادل ژنتیکی غیرطبیعی نیست، یعنی تمام ژن‌ها به میزان طبیعی وجود دارند اما جابه‌جایی و واژگونی می‌توانند در فنوتیپ تغییر ایجاد کنند زیرا بیان ژن ممکن است تحت تأثیر مکان آن ژن در بین ژن‌های دیگر قرار بگیرد.

اختلالات مربوط به تغییر در کروموزوم‌های انسانی

بسیاری از اختلالات جدی در انسان مربوط به تغییر در ساختار و یا تعداد کروموزوم‌هاست. با هم ماندن کروموزوم‌ها در میوز موجب ایجاد گامت‌های انیوپلوئید می‌شود. اگر یک گامت انیوپلوئید با یک گامت هاپلوئید طبیعی لقاح کند، حاصل یک زیگوت انیوپلوئید است. با آنکه تعداد زیگوت‌های انیوپلوئید در انسان زیاد است اما بیشتر این تغییرات کروموزومی به حدی مشکل‌ساز هستند که جنین به‌صورت خودبه‌خودی در اوایل دوران جنینی سقط می‌شود. اما بعضی اوقات برخی از انواع انیوپلوئیدی کمتر از سایرین تعادل ژنتیکی را برهم می‌زنند و درنتیجه افراد با این حالات انیوپلوئیدی خاص می‌توانند به دنیا آمده و زندگی کنند. این افراد دارای مجموعه علایمی به‌نام سندرم *یا نشانگان*[5] هستند که به نوع انیوپلوئیدی بستگی دارد. اختلالات ژنتیکی را می‌توان پیش از تولد جنین توسط بعضی آزمایش‌ها تشخیص داد (شکل ۱۹-۱۴ را ببینید).

1- Duplication
2- Inversion
3- Translocation
4- Unequal

نشانگان داون *(تری‌زومی ۲۱)*[6]

یک حالت انیوپلوئیدی، **نشانگان داون** است. تقریباً از هر ۷۰۰ کودکی که در ایالات متحده متولد می‌شوند یکی دارای این حالت است (**شکل ۱۵-۱۵**). نشانگان داون معمولاً حاصل وجود یک کروموزوم اضافی ۲۱ است. بنابراین در این افراد هریک از سلول‌های پیکری دارای ۴۷ کروموزوم هستند. از آن‌جایی‌که سلول‌ها برای کروموزوم ۲۱ حالت تری‌زومی دارند به این سندرم، تری‌زومی ۲۱ نیز گفته می‌شود. مشخصات نشانگان داون شامل ویژگی‌های خاص چهره، قامت کوتاه، نارسایی‌های قلبی، مستعد بودن به عفونت‌های تنفسی، و عقب‌ماندگی ذهنی است. علاوه بر این‌ها، افرادی که سندرم داون دارند بیشتر به لوسمی و آلزایمر مبتلا می‌شوند. با آنکه طول عمر افراد مبتلا به سندرم داون کوتاه‌تر است اما برخی به سنین میان‌سالی و یا بالاتر نیز می‌رسند. بیشتر این افراد از لحاظ جنسی تکوین‌نیافته و عقیم هستند.



◄ **شکل ۱۵-۱۵ نشانگان داون.** *این کودک دارای ویژگی‌های چهرهٔ یک فرد مبتلا به داون است و در کاریوتیپ آن، تری‌زومی ۲۱ را مشاهده می‌کنید که شایع‌ترین علت این بیماری است.*

5- Syndrome
6- Down Syndrome

احتمال ایجاد سندرم داون با افزایش سن مادر افزایش می‌یابد. احتمال بروز این اختلال در فرزندانی که دارای مادرانی زیر ۳۰ سال هستند ۰/۰۴٪ است، این احتمال برای مادران ۴۰ ساله به ۰/۹۲٪ می‌رسد و برای مادران مسن‌تر، این احتمال بالاتر نیز می‌رود. ارتباط بین سن مادر و سندرم داون هنوز کاملاً مشخص نشده است. در بیشتر اوقات، علت باهم ماندن کروموزوم‌ها طی میوز I است. برخی از تحقیقات نشان داده‌اند که این امر به‌علت یک اختلال وابسته به سن در نقطهٔ وارسی میوز است که در حالت طبیعی آنافاز را آنقدر طولانی می‌کند تا تمامی کینه‌توکورها به دوک متصل شوند (همانند مرحلهٔ وارسی M در چرخهٔ میتوزی سلول؛ فصل ۱۲ را ببینید). تری‌زومی در برخی دیگر از کروموزوم‌ها نیز با زیاد شدن سن مادر، افزایش می‌یابد اما نوزادانی که دارای این تری‌زومی‌های اتوزومی هستند زیاد زنده نمی‌مانند. غربال‌گری والدین برای جنین‌های تری‌زومی، به دلیل خطر پایین آن و پتانسیل آن در تهیهٔ اطلاعات مفید، در حال حاضر برای کلیهٔ زنان باردار توصیه می‌شود. در سال ۲۰۰۸، اقدام به آگاهی از شرایط تشخیص داده‌شدهٔ قبل از تولد و بعد از تولد، در ایالات متحده به صورت قانون در آمد. این قانون قید می‌کند که پزشکان اطلاعات به‌روز و دقیقی راجع به هر تشخیص قبل از تولد و بعد از تولد به والدین بدهند و نیز عنوان می‌کند که پزشکان از طریق خدمات حمایتی مقتضی با والدین در ارتباط باشند.

انیوپلوئیدی در کروموزوم‌های جنسی

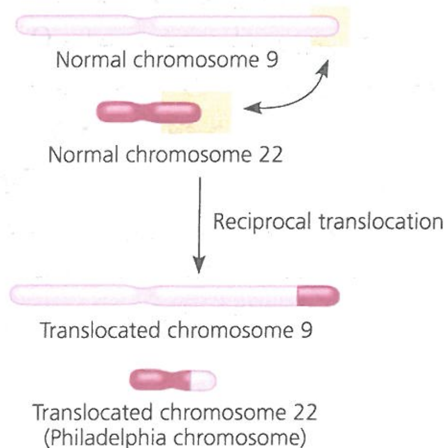
باهم ماندن کروموزوم‌های جنسی، حالات مختلفی از انیوپلوئیدی را ایجاد می‌کند. در بیشتر این حالات، تعادل ژنتیکی کمتر از انیوپلوئیدی‌های اتوزومی به‌هم می‌خورد. این مطلب ممکن است به‌خاطر این مسأله باشد که کروموزوم Y تقریباً ژن‌های اندکی را حمل می‌کند و از طرفی کروموزوم‌های X اضافی در سلول‌های سوماتیک، غیرفعال شده و تبدیل به جسم بار می‌شوند.

یک کروموزوم اضافی در مردان، تولید فرد XXY می‌کند و تقریباً در هر ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ تولد زنده، یک بار مشاهده می‌شود. افراد با این اختلال، به‌نام *نشانگان کلاین فلتر*[1]، دارای اندام جنسی مردانه اما بیضه‌هایی به‌طور غیرطبیعی کوچک و عقیم هستند. با آنکه کروموزوم X اضافی غیرفعال می‌شود اما بزرگ شدن پستان‌ها و سایر خصوصیات زنانگی در آنها رایج است. افراد با این اختلال ممکن است از لحاظ هوشی زیر حد طبیعی باشند. تقریباً در هر ۱,۰۰۰ مرد، یک مرد با یک کروموزوم Y اضافی (XYY) به دنیا می‌آید. این مردها تکوین جنسی طبیعی را پشت سر می‌گذارند و هیچ سندرم شناخته‌شده‌ای را نشان نمی‌دهند، اما از حالت معمول بلندتر هستند.

زنانی که دارای تری‌زومی X هستند (XXX)، سالم‌اند و تنها از طریق کاریوتیپ می‌توان آنها را از زنان XX تمایز داد. این اختلال تقریباً در هر ۱,۰۰۰ تولد زنده، یک بار اتفاق می‌افتد. مونوزومی X که به آن ***نشانگان ترنر***[2] می‌گویند، یک بار در هر ۲,۵۰۰ تولد اتفاق می‌افتد و تنها مونوزومی در انسان است که فرد توانایی زنده ماندن را دارد. با آنکه افراد XO از لحاظ فنوتیپی زن هستند، اما توانایی بارور شدن ندارند زیرا اندام جنسی آنها بالغ نمی‌شود. وقتی این افراد را با استروژن هورمون‌درمانی کنیم، آنگاه صفات ثانویهٔ جنسی در آنها بروز می‌کند. اغلب این افراد از لحاظ هوشی سالم‌اند.

اختلالات مربوط به تغییرات ساختاری کروموزوم‌ها

بسیاری از حذف‌ها در کروموزوم‌های انسان، حتی در حالت هتروزیگوس مشکلاتی جدی ایجاد می‌کنند. یکی از انواع این سندرم‌ها که به‌نام *کرای دو شات*[3] (فریاد گربه) شناخته می‌شود، در اثر حذف خاصی در کروموزوم شمارهٔ ۵ ایجاد می‌شود. بچه‌هایی که با این حذف به دنیا می‌آیند دارای عقب‌ماندگی ذهنی، سری کوچک با خصوصیات خاص چهره هستند و صدای گریهٔ آنها مانند میومیوی گربهٔ مضطرب است. اغلب این افراد در دوران نوزادی یا اوایل خردسالی می‌میرند.



▶ شکل ۱۶- ۱۵ **جابه‌جایی مربوط به سرطان خون مزمن وابسته به مغز استخوان (CML).** *سلول‌های سرطانی در تقریباً تمامی بیماران مبتلا به CML دارای یک کروموزوم ۲۲ غیرطبیعی کوچک و یک کروموزوم ۹ غیرطبیعی بزرگ هستند. این کروموزوم‌های تغییریافته حاصل جابه‌جائی نشان‌داده‌شده در این شکل هستند، که احتمالاً در یک پیش‌ساز منفرد گلبول‌های سفید خون رخ داده که در حال انجام میتوز بوده و بنابراین به تمامی سلول‌های نسل‌های بعد منتقل شده است.*

1- Klinefelter syndrome

2- Turner syndrome

3- Cri du chat (cry of the cat)

یکی دیگر از تغییرات ساختاری کروموزومی که منجر به ایجاد ناهنجاری در انسان‌ها می‌شود جابه‌جایی است، یعنی اتصال قطعه‌ای از یک کروموزوم به کروموزوم غیرهمتای دیگر. جابه‌جایی کروموزوم‌ها در ایجاد برخی از سرطان‌های خاص دخالت دارند، مثل *سرطان خون مزمن وابسته به مغز استخوان*[1] (CML). سرطان خون برروی سلول‌هایی که به گلبول‌های سفید تمایز می‌یابند، اثر می‌گذارد. در سلول‌های سرطانی‌شدهٔ افراد مبتلا به CML، یک جابه‌جایی دوطرفه اتفاق افتاده است. در این سلول‌ها قسمت بزرگی از کروموزوم ۲۲ با قطعه‌ای کوچک از انتهای کروموزوم ۹ با هم جابه‌جا شده و کروموزوم ۲۲ کوچکی را که به راحتی قابل شناسایی است تولید می‌کند. به این کروموزوم، *کروموزوم فیلادلفیا*[2] می‌گویند (**شکل ۱۶- ۱۵**). در فصل ۱۸ به بررسی اینکه چگونه چنین تغییری موجب ایجاد سرطان می‌شود می‌پردازیم.

آزمون مبحث ۴-۱۵

۱. تقریباً در ۵٪ از افراد مبتلا به سندرم داون، علت بیماری جابه‌جایی است که در طی آن یک کپی از کروموزوم ۲۱ به کروموزوم ۱۴ متصل می‌شود. اگر این جابه‌جایی در سلول‌های گنادیِ (غدهٔ جنسی) یک والد رخ داده باشد چگونه منجر به ایجاد سندرم داون در فرزند می‌شود؟

۲. **چه می‌شد اگر؟** لوکوس گروه‌های خونی ABO برروی کروموزوم شمارهٔ ۹ نقشه‌یابی شده است. پدری با گروه خونی AB و مادری با گروه خونی O صاحب فرزندی با تری‌زومی ۹ و گروه خونی A شده‌اند. آیا می‌توانید بگوئید فرایند باهم ماندن کروموزوم‌ها در کدام والد رخ داده؟ پاسخ خود را توضیح دهید.

۳. **ارتباط دهید.** ژنی که بر روی کروموزوم فیلادلفیا فعال می‌شود، یک تیروزین کیناز درون‌سلولی را کد می‌کند. مبحث کنترل چرخهٔ سلولی و سرطان را در مبحث ۳-۱۲ مطالعه کنید و توضیح دهید چگونه فعال‌سازی این ژن موجب ایجاد سرطان می‌شود.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۵-۱۵ برخی از الگوهای وراثتی مغایر با وراثت استاندارد مندلی هستند

در بخش قبل با انحرافات غیرطبیعی از الگوهای وراثتی کروموزوم‌ها آشنا شدید. ما این فصل را با بررسی دو استثنای معمول برای ژنتیک مندلی به پایان می‌بریم: یکی مربوط به ژن‌هایی که درون هسته قرار گرفته‌اند و دیگری مربوط به ژن‌هایی که خارج از هسته هستند. در هر دو مورد، جنسیت والدی که یک الل را به اشتراک می‌گذارد، بر روی الگوی توارث تأثیر می‌گذارد.

نقش‌پذیری ژنومی

در خلال بحث راجع به ژنتیک مندلی و اساس کروموزومی وراثت فرض کردیم که یک الل خاص چه از مادر به ارث برسد و چه از پدر دارای اثر مشابهی خواهد بود. این فرضیه معمولاً درست است. برای مثال، هنگامی‌که مندل نخودفرنگی‌های ارغوانی را با سفید آمیزش داد، بدون درنظر گرفتن این مطلب که والد گلبرگ‌ارغوانی منبع تخمک است یا اسپرم، نتیجهٔ مشابهی را مشاهده کرد. اما در سال‌های اخیر متخصصان علم ژنتیک ده‌ها صفت را در پستانداران یافته‌اند که انتقال این صفات بستگی به والدی (نر یا ماده) دارد که الل‌های این صفات را منتقل می‌کنند. به چنین گوناگونیِ فنوتیپی که وابسته به این است که الل از پدر یا مادر به ارث رسیده باشد **نقش‌پذیری ژنومی**[3] می‌گویند (توجه داشته باشید که این صفات وابسته به جنس نیستند بلکه بیشتر آنها اتوزومی می‌باشند).

نقش‌پذیری ژنومی هنگام تشکیل گامت‌ها اتفاق می‌افتد و موجب خاموش شدن یک الل از ژن‌های خاصی می‌شود. از آن‌جایی‌که این ژن‌ها نقش‌پذیری متفاوتی در اسپرم و تخمک دارند، زیگوت تنها یک الل از ژن نقش‌پذیر را بیان می‌کند (یا اللی که از والد ماده به ارث رسیده و یا اللی که از والد نر آمده است). ژن‌های نقش‌پذیرفته، طی تکوین، به تمام سلول‌های بدن منتقل می‌شوند. در هر نسل، ژن‌های نقش‌پذیرفتهٔ قدیمی در سلول‌های تولیدکنندهٔ گامت «پاک» می‌شوند، و کروموزوم‌های گامت‌های درحال تشکیل با توجه به جنسیت فرد، دوباره نقش می‌پذیرند. در هر گونه، ژن‌های نقش‌پذیر همواره به یک صورت نقش می‌پذیرند. برای مثال، ژنی که برای بیان الل مادری نقش می‌پذیرد، همواره طی نسل‌های متوالی برای بیان الل مادری نقش خواهد پذیرفت.

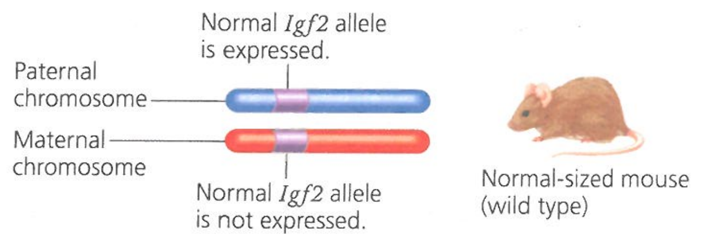
برای نمونه، ژن مربوط به فاکتور رشد شبه انسولینی ۲ (*Igf2*)[4]، یکی از اولین ژن‌های نقش‌پذیری است که شناخته شد. با آنکه این فاکتور رشد برای رشد طبیعی جنین نیاز است اما تنها الل پدری بیان می‌شود (**شکل ۱۷a- ۱۵**). در ابتدا آمیزشی که بین نوع وحشی یک نوع موش و نوع کوتولهٔ آن که برای حالت مغلوب ژن جهش‌یافتهٔ *Igf2* هوموزیگوس بود ثابت کرد که ژن *Igf2* نقش‌پذیر است. فنوتیپ زاده‌های هتروزیگوس (دارای یک الل طبیعی و یک الل

1- Chronic myelogenous leukemia (CML)
2- Philadelphia chromosome
3- Genomic imprinting
4- Insulin-like growth factor 2 (*Igf2*)

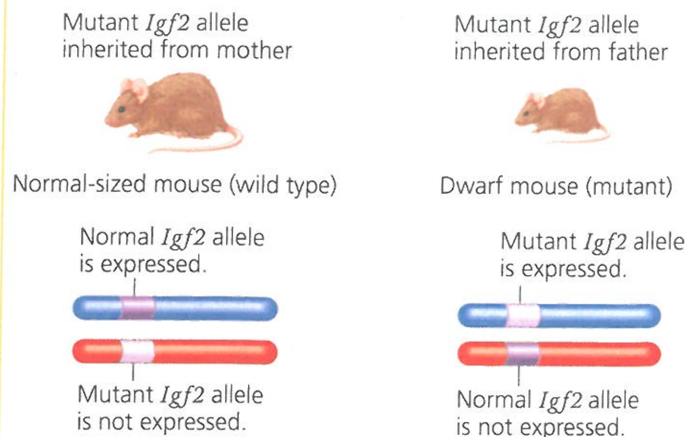
جهش‌یافته) بسته به اینکه الل جهش‌یافته را از مادر یا پدر دریافت کرده بودند با هم متفاوت بود (شکل ‎17b‏- ۱۵).

نقش‌پذیری ژنومی به‌طور دقیق چیست؟ در بسیاری از موارد به‌نظر می‌رسد که در این پدیده گروه‌های متیل ($-CH_3$) به نوکلئوتیدهای سیتوزین یک الل متصل می‌شوند. این متیلاسیون می‌تواند مستقیماً الل را خاموش کند، زیرا ژن‌های متیله‌شده به میزان زیاد، غالباً خاموش هستند (به فصل ۱۸ مراجعه کنید). اما برای برخی از ژن‌ها نشان داده شده است که متیلاسیون موجب بیان آنها می‌شود. این مطلب در مورد ژن *Igf2* نیز صادق است: متیله شدن سیتوزین‌های خاصی برروی کروموزوم پدری موجب بیان الل *Igf2* پدری می‌شود. هنگامی که پژوهشگران دریافتند که متیلاسیون DNA به‌طور غیر مستقیم عمل کرده و آنزیم‌هایی را به‌کار می‌گیرد که پروتئین‌های متصل به DNA (هیستون‌ها) را تغییر داده و موجب تراکم موضعی DNA می‌شوند، این تناقض ظاهری که متیلاسیون DNA الل‌ها را فعال می‌کند یا خاموش، تا حدودی برطرف شد. بسته به اینکه عملکرد اولیهٔ DNAی متراکم‌شده در تنظیم بیان الل چیست، متیلاسیون موجب مهار یا فعال‌سازی آن الل معین می‌شود.

تصور می‌شود که نقش‌پذیری ژنومی تنها برروی نسبت کوچکی از ژنوم پستانداران اثر می‌گذارد، اما بیشتر ژن‌های نقش‌پذیر شناخته شده نقشی حیاتی در تکوین جنین دارند. برای مثال، در آزمایش‌هایی که برروی موش انجام شده است جنین‌هایی که دو کپی از یک کروموزوم را از یک والد دریافت کردند (از طریق مهندسی ژنتیک)، پیش از تولد مردند، چه آن والد پدر و چه مادر باشد. اما، چند سال قبل دانشمندان ژاپنی مادهٔ ژنتیکی دو تخمک را با یکدیگر ترکیب کرده و سلول تخم را تولید کردند و اجازه دادند فقط ژن *Igf2* یکی از هسته‌های تخمکی بیان شود. این سلول تخم تکوین یافت و موش ظاهراً سالمی را به‌وجود آورد. ظاهراً تکوین طبیعی نیازمند این است که سلول جنینی دارای دقیقاً یک کپی فعال ـ نه دو تا و نه هیچ ـ از یک ژن خاص باشد. ارتباط نقش‌پذیری غیرطبیعی با تکوین غیرطبیعی و برخی از سرطان‌های خاص بسیار زیاد است و مطالعات فراوانی برروی چگونگی نقش‌پذیری ژن‌های مختلف شده است.



(a) **هوموزیگوت.** یک موش وحشی که برای الل‌های طبیعی ژن *Igf2* هوموزیگوس است اندازهٔ بدن معمولی دارد. تنها الل پدری این ژن بیان می‌شود.



(b) **هتروزیگوت‌ها.** آمیزش بین موش‌های نوع وحشی و موش‌های هوموزیگوس از نظر الل جهش‌یافتهٔ مغلوب *Igf2*، منجر به فرزندان هتروزیگوس می‌شود. فنوتیپ قد کوتاه (جهش‌یافته) فقط هنگامی ظاهر می‌شود که الل جهش‌یافته از پدر به ارث رسیده باشد، زیرا الل مادری بیان نمی‌شود.

شکل ۱۷- ۱۵ نقش‌پذیری ژنومیِ ژن *Igf2* در موش.

وراثت ژن‌های اندامک‌ها

با آنکه در این فصل بیشتر بحث ما برروی اساس کروموزومی وراثت بود، آخر این فصل را با این تبصرهٔ مهم پایان می‌دهیم: تمام ژن‌های سلول‌های یوکاریوتی درون کروموزوم‌های هسته‌ای و یا درون هسته قرار ندارند. برخی از ژن‌ها درون اندامک‌ها، در سیتوپلاسم واقع شده‌اند. گاهی به این ژن‌ها، *ژن‌های خارج هسته‌ای*[1] می‌گویند. میتوکندری و کلروپلاست به همراه سایر پلاست‌های گیاهی دارای مولکول‌های DNAی کوچک حلقوی هستند که ژن‌هایی را حمل می‌کنند. این اندامک‌ها به‌طور مستقل همانندسازی کرده و ژن‌های خود را به اندامک‌های دختری منتقل می‌کنند. از

1- Extranuclear genes

آن‌جایی‌که انتقال ژن‌ها به اندامک‌های دختری مشابه انتقال کروموزوم‌های هسته‌ای به سلول‌های دختری طی میوز نیست و از قوانین دیگری پیروی می‌کند، وراثت در آنها شبیه وراثت مندلی نیست.

اولین جرقه‌ای که موجب کشف ژن‌های خارج هسته‌ای شد مربوط به تحقیقات کارل کورنز[1] برروی وجود لکه‌های سفید یا زرد برروی برگ‌های یک گیاه غیرسبز بود. در سال ۱۹۰۹، وی مشاهده کرد که رنگ برگ‌های زاده‌ها تنها از طرف والد مادری کنترل می‌شود و والد پدری (منبع گرده‌ها) تأثیری بر آن ندارد. تحقیقات بعدی نشان داد که این الگوی رنگ‌پذیری و یا این گوناگونی به‌خاطر جهش در ژن‌های پلاستی است که رنگ‌پذیری را کنترل می‌کنند. در بیشتر گیاهان، سلول تخم تمامی پلاست‌های خود را از تخمک (تخمزا) دریافت می‌کند و هیچ پلاستی از دانهٔ گرده نمی‌گیرد. در طی تکوین زیگوت، پلاست‌هایی که حاوی ژن‌های وحشی یا جهش‌یافته هستند به‌صورت تصادفی به سلول‌های دختری منتقل می‌شوند. رنگی که برگ گیاه از خود نشان می‌دهد بستگی به نسبت پلاست‌های وحشی به جهش‌یافته در بافت‌های متفاوت دارد (**شکل ۱۸- ۱۵**).

وراثت مادری مشابهی نیز در مورد ژن‌های میتوکندریایی بیشتر جانوران و گیاهان وجود دارد. زیرا تقریباً تمام میتوکندری‌هایی که به زیگوت می‌رسد از سیتوپلاسم تخمک است. محصول بیشتر ژن‌های میتوکندریایی به تولید مجموعه پروتئین‌های زنجیرهٔ انتقال الکترون و سنتز ATP (فصل ۹ را ببینید) کمک می‌کند. نقص در



◄ **شکل ۱۸- ۱۵ گوناگونی برگ‌های درخت راج انگلیسی (*Ilex aquifolium*).** *انواع مختلف برگ‌ها (لکه‌دار یا نواری) حاصل جهش در ژن‌های کنترل‌کنندهٔ رنگ در پلاست‌هاست که معمولاً از والد مادری به ارث می‌رسند.*

یک یا چند عدد از این پروتئین‌ها موجب کاهش میزان تولید ATP در سلول می‌شود و این امر علت برخی از اختلالات نادر در انسان است. از آن‌جایی‌که دستگاه اسکلتی و عصبی بیشترین حساسیت را به میزان انرژی در دسترس دارند این بیماری‌ها معمولاً ابتدا این دستگاه‌ها را درگیر می‌کنند. برای مثال، فردی که دچار *میوپاتی میتوکندریایی*[2] است از ضعف، عدم تعادل در حرکات بدن و زوال ماهیچه‌ها رنج می‌برد. اختلال میتوکندریایی بعدی، *نوروپاتی بینایی ارثی لبر* (Leber's hereditary optic neuropathy) است، که موجب کوری ناگهانی در انسان‌ها در دههٔ ۲۰ یا ۳۰ زندگی آنها می‌شود. چهار جهشی که تا کنون شناخته شده‌اند و موجب این اختلال می‌شوند، بر روی فسفریلاسیون اکسیداتیو در طی تنفس سلولی تأثیر می‌گذارند، عملکردی که برای سلول ضروری است.

علاوه بر این اختلالات نادری که ذکر شد، جهش‌های میتوکندریایی که از مادر به ارث می‌رسند می‌توانند عامل برخی از دیابت‌ها و بیماری‌های قلبی و همچنین برخی دیگر از اختلالاتی شوند که معمولاً در سنین بالا دیده می‌شود مثل آلزایمر. همچنین محققین بر این عقیده هستند که علت فرایند طبیعی پیر شدن، برخی از جهش‌هایی است که در DNAی میتوکندریایی رخ می‌دهند و برروی هم جمع می‌شوند.

ژن‌ها در هر جایی از سلول که باشند ـ درون هسته و یا اندامک‌های سیتوپلاسم ـ وراثت آنها بستگی به همانندسازی دقیق DNA (مادهٔ ژنتیک) دارد. در فصل بعد خواهید دید که همانندسازی از دیدگاه مولکولی چگونه اتفاق می‌افتد.

پرسش‌های مبحث ۵-۱۵

۱. دُز ژنی ـ تعداد نسخه‌های فعال ژن ـ برای تکوین مناسب مهم است. دو فرایند که موجب مناسب نگاه‌داشتن دُز ژن می‌شوند را مشخص و توصیف کنید.

۲. آمیزش دوطرفه بین دو نوع مختلف گل پامچال A و B نتایج زیر را داشت:

تمامی زاده‌ها با برگ سبز (بدون تغییر در ظاهر) → B نر × A ماده.
زاده‌ها خال‌دار بودند (فنوتیپ متفاوت) → A نر × B ماده. این مسأله را توجیه کنید.

۳. **چه می‌شد اگر؟** ژن‌های میتوکندریایی در متابولیسم انرژی سلول‌ها نقش مهمی دارند. پس چرا اختلالات میتوکندریایی که به علت جهش در این ژن‌ها ایجاد می‌شوند کشنده نیستند؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Karl Correns

2- Mitochondrial myopathy

15 مرور فصل

خلاصه مفاهیم کلیدی

۱-۱۵ اساس فیزیکی وراثت مندلی برمبنای رفتار کروموزوم‌هاست

- **نظریهٔ کروموزومی وراثت** بیان می‌کند که ژن‌ها برروی کروموزوم‌ها قرار دارند و قوانین تفکیک و جور شدن مستقل ژن‌های مندل بر مبنای رفتار کروموزوم‌ها در طی میوز است.
- اولین مدرک مستحکم که مشخص می‌کرد یک ژن خاص مربوط به یک کروموزوم خاص است توسط مورگان با کشف ارتباط کروموزوم X دروزوفیلا با وراثت صفت رنگ چشم مشخص شد.

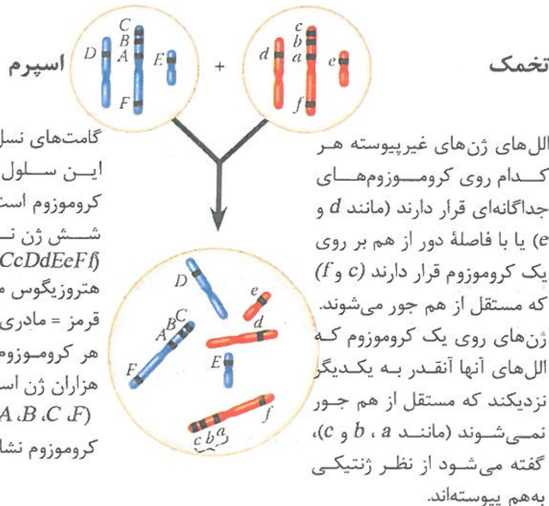
> ؟ **کدام ویژگی کروموزوم‌های جنسی باعث شد تا مورگان رفتار کروموزوم‌های جنسی را با الل‌های ژن رنگ چشم ارتباط دهد؟**

۲-۱۵ ژن‌های وابسته به جنس، الگوی وراثتی منحصربه‌فردی دارند

- فنوتیپ جنسی یک جاندار معمولاً با حضور یا عدم حضور یک کروموزوم خاص مشخص می‌شود. انسان‌ها و سایر پستانداران دارای سیستم X-Y هستند که در آن به‌طور معمول جنسیت با حضور یا عدم حضور کروموزوم Y مشخص می‌شود. سیستم‌های تعیین جنسیت متفاوتی در پرندگان، ماهی‌ها و حشرات یافت می‌شوند.
- کروموزوم‌های جنسی دارای ژن‌های خاصی برای ایجاد صفاتی هستند که ربطی به زنانگی و مردانگی ندارند. برای مثال، الل‌های مغلوبی که ایجاد کوررنگی، هموفیلی و دیستروفی عضلانی دوشن می‌کنند توسط کروموزوم X حمل می‌شوند. اینها و دیگر الل‌های پیوسته به X توسط پدران به تمامی دختران منتقل می‌شوند اما به هیچ پسری نمی‌رسند. هر پسری که یک الل مغلوب وابسته به جنس را از مادرش دریافت کند آن صفت را بروز می‌دهد.
- در پستانداران ماده، یکی از کروموزوم‌های X در هر سلول به‌طور تصادفی در اوایل دوران جنینی غیرفعال می‌شود. سلول‌های نسل‌های بعد نیز همین کروموزوم X غیر فعال را به ارث می‌برند. اگر یک فرد ماده دارای ژن خاصی که برروی کروموزوم X قرار دارد هتروزیگوس باشد وی برای این صفت خاص، موزائیک خواهد بود، به‌طوری‌که تقریباً نصف سلول‌های او الل مادری و نصف دیگر سلول‌ها الل پدری را بیان می‌کنند.

> ؟ **چرا مردها بیش‌تر از زن‌ها تحت تأثیر اختلالات وابسته به X قرار می‌گیرند؟**

۳-۱۵ ژن‌های پیوسته تمایل دارند باهم به ارث برسند زیرا آنها نزدیک به‌هم و برروی یک کروموزوم قرار گرفته‌اند



الل‌های ژن‌های غیرپیوسته هر کدام روی کروموزوم‌های جداگانه‌ای قرار دارند (مانند d و e) یا با فاصلهٔ دور از هم بر روی یک کروموزوم قرار دارند (c و f) که مستقل از هم جور می‌شوند.

ژن‌های روی یک کروموزوم که الل‌های آنها آنقدر به یکدیگر نزدیکند که مستقل از هم جور نمی‌شوند (مانند a ، b و c)، گفته می‌شود از نظر ژنتیکی به‌هم پیوسته‌اند.

گامت‌های نسل P

این سلول F_1 دارای $2n=6$ کروموزوم است و برای تمامی شش ژن نشان داده شده ($AaBbCcDdEeFf$) هتروزیگوس می‌باشد.

قرمز = مادری؛ آبی = پدری

هر کروموزوم دارای صدها یا هزاران ژن است. چهار ژن (A، B، C، F) روی این کروموزوم نشان داده شده‌اند.

- در بین فرزندان حاصل از آمیزش آزمون F_1، ترکیب صفات در فرزندانِ **نوع والدی**، مانند ترکیب صفات والدین نسل P است. **انواع نوترکیب (نوترکیب‌ها)** ترکیب جدیدی از صفات را نشان می‌دهند که قبلاً در هیچ‌یک از والدین نسل P وجود نداشته‌اند. به علت جور شدن مستقل کروموزوم‌ها، فراوانی نوترکیبی در بین ژن‌های غیر پیوسته در گامت‌ها ۵۰٪ می‌باشد. در **ژن‌های پیوسته** به علت وقوع **کراسینگ اور** در بین کروماتیدهای غیرخواهری در میوز I، نوترکیبی مشاهده می‌شود، که همواره کمتر از ۵۰٪ است.
- ترتیب ژن‌ها بر روی یک کروموزوم و فاصلهٔ نسبی بین آنها را با توجه به فراوانی نوترکیبی مشاهده‌شده در آمیزش‌های ژنتیکی می‌توان به‌دست آورد. این اطلاعات به ساخت **نقشهٔ پیوستگی** کمک می‌کنند (**یک نوع نقشهٔ ژنتیکی**). هرچه ژن‌ها از هم دورتر باشند، احتمال بیشتری دارد که الل‌هایشان طی کراسینگ‌اور نوترکیب شوند.

> ؟ **چرا الل‌های اختصاصی دو ژن پدری که از یکدیگر فاصله دارند، بیشتر از الل‌های دو ژن نزدیک به‌هم، نوترکیبی نشان می‌دهند؟**

۴-۱۵ تغییر در تعداد یا ساختار کروموزوم‌ها موجب برخی اختلالات ژنتیکی می‌شود

- **انیوپلوئیدی** می‌تواند حاصل آمیزش یک گامت طبیعی با گامت دیگری که دارای دو نسخه از یک کروموزوم است و یا هیچ نسخه‌ای از آن کروموزوم خاص را ندارد، باشد. این امر حاصل **با هم ماندن کروموزوم‌ها** طی میوز است. سلول‌های حاصل از تقسیم این زیگوت نیز یا دارای یک

نسخهٔ اضافی از یک کروموزوم (**تری‌زومی**) و یا فاقد یک کروموزوم خاص هستند (**مونوزومی**). **پلی‌پلوئیدی** که در آن فرد دارای بیش از دو مجموعهٔ کامل کروموزومی است می‌تواند حاصل باهم ماندن کامل کروموزوم‌ها هنگام تشکیل گامت‌ها باشد.

- شکست در کروموزوم می‌تواند موجب تغییراتی در ساختار کروموزوم شود: **حذف‌شدگی‌ها**، **مضاعف‌شدگی‌ها**، **واژگونی‌ها**، و **جابه‌جایی‌ها**. جابه‌جایی کروموزوم‌ها می‌تواند دوجانبه یا یک‌جانبه باشد.

- تغییر در تعداد کروموزوم‌های هر سلول و یا تغییر در ساختار کروموزوم‌های فرد می‌تواند برروی فنوتیپ اثر کند. این تغییرات علت **نشانگان داون** هستند (که معمولاً به‌علت تری‌زومی کروموزوم ۲۱ ایجاد می‌شود). همچنین برخی از سرطان‌های خاص مربوط به جابه‌جایی در کروموزوم‌ها هستند. بسیاری از اختلالات دیگر انسانی در این رابطه کشف شده‌اند.

؟ چرا واژگونی‌ها و جابه‌جایی‌های دوجانبه نسبت به انیوپلوییدی، مضاعف‌شدگی‌ها، حذف‌شدگی‌ها و جابه‌جایی‌های یک جانبه، احتمالاً کمتر کشنده هستند؟

۵-۱۵ برخی از الگوهای وراثتی مغایر با وراثت استاندارد مندلی هستند

- در پستانداران، تأثیرات فنوتیپی برخی از ژن‌های خاص بسته به این است که الل از مادر یا از پدر به ارث رسیده باشد، پدیده‌ای که **نقش‌پذیری** نامیده می‌شود. نقش‌پذیری در هنگام تشکیل گامت‌ها رخ می‌دهد و موجب می‌شود تا یک الل (چه پدری و چه مادری) در آن زاده بیان نشود. بیشتر ژن‌های نقش‌پذیری که تاکنون شناخته شده‌اند مربوط به تکوین جنین هستند.

- وراثت صفاتی که توسط ژن‌های موجود در میتوکندری و کلروپلاست کنترل می‌شوند، منحصراً توسط والد ماده تعیین می‌شود زیرا سیتوپلاسم زیگوت توسط سیتوپلاسم تخمک تأمین می‌شود. برخی از بیماری‌هایی که بر روی دستگاه اسکلتی و عصبی اثر می‌گذارند به علت نقص در ژن‌های میتوکندریایی هستند که موجب می‌شوند تا سلول نتواند به میزان کافی ATP تولید کند.

؟ توضیح دهید چرا نقش‌پذیری ژنومی و وراثت DNAی میتوکندریایی و کلروپلاستی، استثناهای وراثت استاندارد مندلی به‌حساب می‌آیند.

خود را بیازمایید

۱- مردی با بیماری هموفیلی (وابسته به جنس مغلوب) دارای یک دختر با ظاهری سالم است. این دختر با مردی که از این لحاظ سالم است ازدواج می‌کند. احتمال اینکه دختر حاصل از این ازدواج دارای هموفیلی باشد چقدر است؟ اگر این خانواده چهار پسر داشته باشد، احتمال اینکه تمام آنها بیماری هموفیلی داشته باشند چقدر است؟

۲- دیستروفی عضلانی سودوهایپرتروفیک، یک ناهنجاری ژنتیکی است که موجب از بین رفتن تدریجی عضلات می‌شود. این بیماری بیشتر در پسرانی که از والدین به ظاهر سالم متولد شده‌اند دیده می‌شود و معمولاً موجب مرگ آنها در هنگام نوجوانی می‌گردد. عامل ایجاد این بیماری غالب است یا مغلوب؟ وراثت آن وابسته به جنس است یا اتوزومی؟ دلایل خود را شرح دهید، و همچنین توضیح دهید که چرا تقریباً هیچ‌گاه این بیماری در دختران دیده نمی‌شود؟

۳- یک مگس سرکه (که برای صفت بدن خاکستری و اندازهٔ بال معمولی، هتروزیگوس است) با یک مگس سیاه با بال‌های وستیجیال آمیزش می‌کند. فراوانی فنوتیپی در زاده‌های آنها به‌صورت زیر است: نوع وحشی ۷۷۸، سیاه بال‌کوچک ۷۸۵، سیاه با بال معمولی ۱۵۸، خاکستری با بال کوچک ۱۶۲. فراوانی نوترکیبی بین ژن‌های رنگ بدن و اندازه‌ی بال چقدر است؟

۴- چه الگوی وراثتی موجب شد تا متخصصان علم ژنتیک به این فکر بیفتند که اختلالات وراثتیِ متابولیسم سلولی به‌خاطر نقص در ژن‌های میتوکندریایی هستند؟

۵- یک کاوشگر فضایی سیاره‌ای را یافت که در آن موجوداتی زندگی می‌کردند که دارای الگوهای وراثتی مشابه انسان‌ها بودند. سه صفت فنوتیپی قد (کوتاه = t ، بلند =T)، زوائد سر (فاقد شاخک = a، دارای شاخک =A) و ظاهر بینی (سرپائین= s ، سربالا=S) را در نظر گرفتیم. از آنجایی‌که این موجودات، هوشمند (دارای شعور) نبودند محققان زمینی می‌توانستند برخی از آمیزش‌های کنترل‌شده را بر روی آنها انجام دهند و بر روی افراد هتروزیگوس آمیزش آزمون انجام دهند. حاصل این آمیزش‌ها برای افراد قدبلند هتروزیگوس شاخک‌دار چنین بود: بلند ـ شاخک‌دار ۴۶؛ کوتاه ـ شاخک‌دار ۷؛ کوتاه ـ بدون شاخک ۴۲؛ بلند ـ بدون شاخک ۵ ـ و برای هتروزیگوس‌های دارای شاخک و دماغ سربالا چنین بود: دارای شاخک ـ دماغ سربالا ۴۷، دارای شاخک ـ دماغ سرپائین ۲، بدون شاخک ـ دماغ سرپائین ۴۸، بدون شاخک ـ دماغ سربالا ۳. فراوانی نوترکیبی در هر دو آمیزش را محاسبه کنید.

۶- با استفاده از اطلاعات مسألهٔ ۵، دانشمندان یک آمیزش آزمون دیگر با استفاده از افرادی که برای صفت بلندی قد و شکل بینی هتروزیگوس بودند انجام دادند. زاده‌ها به صورت: بلند ـ بینی سربالا ۴۰، کوتاه ـ بینی سربالا ۹، کوتاه ـ بینی سرپائین ۴۲، بلند ـ بینی سرپائین ۹ بودند. فراوانی نوترکیبی را محاسبه کرده و با استفاده از پاسخ خود در سؤال ۵، ترتیب این سه ژن پیوسته را مشخص کنید.

۷- کوررنگی قرمز- سبز حاصل یک الل وابسته به جنس مغلوب است. یک مرد کوررنگ با زنی که پدر او نیز کوررنگ بوده ازدواج می‌کند.

احتمال اینکه آنها دختری کوررنگ داشته باشند چقدر است؟

احتمال اینکه پسر اول آنها کوررنگ باشد چقدر است؟

(توجه: ادبیات دو سؤال کمی با هم متفاوت است)

۸- در یک آمیزش، یک مگس سرکهٔ وحشی (که برای رنگ خاکستری بدن و رنگ قرمز چشم هتروزیگوس است) با یک مگس سرکهٔ سیاه با

چشمان ارغوانی آمیزش می‌کند. زاده‌ها به صورت زیر بودند: نوع وحشی ۷۲۱، سیاه ـ ارغوانی ۷۵۱، خاکستری ـ ارغوانی ۴۹، سیاه ـ قرمز ۴۵. فراوانی نوترکیبی بین ژن‌های رنگ بدن و چشم چقدر است؟ با استفاده از اطلاعات سؤال ۳، برای مشخص کردن ترتیب ژن‌های رنگ بدن، اندازهٔ بال و رنگ چشم بر روی کروموزوم، چه مگس‌های سرکه‌ای (از لحاظ فنوتیپ و ژنوتیپ) را باید با هم آمیزش داد؟

۹- **ترسیم کنید** مگس سرکهٔ خالصی با بدن خاکستری و بال‌های کوتاه ($b^+ b^+ vg\ vg$) با مگس سرکهٔ خالصی با بدن سیاه و بال‌های طبیعی ($b\ b\ vg^+ vg^+$) آمیزش داده می‌شود.

(a) کروموزوم‌های مگس‌های نسل P را رسم کنید، برای مگس خاکستری رنگ قرمز و برای مگس سیاه رنگ صورتی را به‌کار ببرید. موقعیت هر الل را نشان دهید.

(b) کروموزوم‌های یک مگس F_1 را ترسیم کرده و الل‌های آن را مشخص کنید.

(c) فرض کنید روی یک مادهٔ F_1 آمیزش آزمون انجام شود. کروموزوم‌های فرزندان به‌وجود آمده را در یک جدول پانت رسم کنید.

(d) با توجه به اینکه فاصلهٔ بین این دو ژن ۱۷ واحد نقشه‌ای است، نسبت‌های فنوتیپی این فرزندان را پیش‌بینی کنید.

۱۰- زن‌هایی که دارای یک کروموزوم X اضافی هستند (XXX)، سالم می‌باشند و از لحاظ فنوتیپی از زنان سالم XX غیرقابل تمایز می‌باشند. توضیح محتمل برای این امر چیست؟ چگونه می‌توانید توضیح خود را آزمایش کنید؟

۱۱- ترتیب ژن‌های زیر را براساس فراوانی نوترکیبی آنها بر روی کروموزوم مشخص کنید: A-B ۸ واحد نقشه، A-C ۲۸ واحد نقشه، A-D ۲۵ واحد نقشه، B-C ۲۰ واحد نقشه، B-D ۳۳ واحد نقشه.

۱۲- فرض کنید که ژن‌های A و B به هم پیوسته هستند و ۵۰ واحد نقشه از هم فاصله دارند. جانوری که برای هر یک از این لوکوس‌های ژنی هتروزیگوس است را با جانوری که برای هر دوی اینها هوموزیگوس است آمیزش می‌دهیم. چه درصدی از زاده‌ها، فنوتیپ حاصل از کراسینگ اور را نشان می‌دهند؟ اگر نمی‌دانستید که ژن‌های A و B پیوسته هستند نتایج حاصل از این آمیزش را چگونه تفسیر می‌کردید؟

۱۳- دو ژن گیاهی که یکی مسئول آبی (B) یا سفید (b) بودن گلبرگ‌ها و دیگری مسئول مدور (R) یا بیضوی (r) بودن پرچم‌هاست، بر روی کروموزوم ۱۰ با فاصله از هم قرار دارند. گیاه آبی- بیضوی هوموزیگوس را با گیاه سفید- مدور هوموزیگوس آمیزش دادیم. زاده‌های نسل F_1 را با گیاهان سفید- بیضوی هوموزیگوس آمیزش دادیم. اگر در نسل F_2 ۱،۰۰۰ زاده حاصل شود، تعداد هر فنوتیپ را پیش‌بینی کنید.

۱۴- شما آمیزش‌هایی را برای *دروزوفیلا* طراحی کرده‌اید تا به‌وسیلهٔ آن فراوانی نوترکیبی برای ژن a را به‌دست آورید. این ژن برروی کروموزومی که در شکل ۱۲- ۱۵ نشان داده شده است قرار دارد. فراوانی نوترکیبی ژن a با لوکوس بال وستیجیال ۱۴٪ و با لوکوس چشمان قهوه‌ای ۲۶٪ است. مکان ژن a برروی این کروموزوم کجاست؟

۱۵- درختان موز تریپلوئید و بی‌دانه بوده و بنابراین عقیم هستند. یک توضیح ممکن برای این امر پیشنهاد کنید.

۱۶- ارتباط تکاملی

تصور می‌شود که کراسینگ اور، یا نوترکیبی، از نظر تکاملی سودمند است، زیرا به‌طور پیوسته الل‌های ژنتیکی را با هم مخلوط کرده و ترکیبات جدیدی را به‌وجود می‌آورد، که باعث وقوع فرایندهای تکاملی می‌شود. تا این اواخر تصور می‌شد که ژن‌های روی کروموزوم Y ممکن است تخریب شوند، زیرا این ژن‌ها فاقد ژن‌های همتا بر روی کروموزوم X هستند تا با آن نوترکیبی انجام دهند. اما، هنگامی که کروموزوم Y توالی‌یابی شد، هشت ناحیهٔ بزرگ بر روی این کروموزوم شناسایی شدند که شبیه به یکدیگر بودند و بعضی از این ۷۸ ژن مضاعف شده‌اند (دیوید پاژ [David Page] ، پژوهشگر کروموزوم Y آن را «عمارت آینه‌ها» نامیده است.) فایدهٔ این نواحی چه می‌تواند باشد؟

۱۷- تحقیق علمی



پروانه‌ها دارای یک سیستم تعیین جنسیت X-Y هستند که با سیستم تعیین جنسیت انسان‌ها و مگس‌ها متفاوت است. پروانه‌های ماده ممکن است XY یا XO باشند، در حالی که پروانه‌های دارای دو یا تعداد بیشتری کروموزوم X، نر هستند. این تصویر یک پروانهٔ دوجنسی را نشان می‌دهد (فردی که نیمی نر [سمت چپ] و نیمی ماده [سمت راست] است). با توجه به اینکه تقسیم اول سلول تخم، جنین را به دو نیمهٔ راست و چپ آتی در پروانه تقسیم می‌کند، فرضیه‌ای را پیشنهاد کنید که توضیح می‌دهد چگونه جدا نشدن کروموزوم‌ها در طی میتوز اول ممکن است این پروانهٔ به ظاهر غیر معمول را به‌وجود آورد.

۱۸- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات ادامهٔ حیات به اطلاعات وراثتی به شکل DNA بستگی دارد. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت)، ساختار و رفتار کروموزوم‌ها در گونه‌هایی که به دو طریق جنسی و غیرجنسی تولیدمثل می‌کنند را با توارث ارتباط دهید.

16

اساس مولکولی وراثت



شکل ۱- ۱۶ **ساختار DNA چگونه تعیین شد؟**

مفاهیم کلیدی

۱۶-۱ DNA مادهٔ ژنتیک است

۱۶-۲ پروتئین‌های متعددی در همانندسازی و ترمیم DNA نقش دارند

۱۶-۳ یک کروموزوم شامل یک مولکول DNA است که توسط پروتئین‌ها بسته‌بندی شده است

نگاه کلی

نحوهٔ ادارهٔ حیات

در آوریل ۱۹۵۳، جیمز واتسون و فرانسیس کریک، با ارائه‌ی مدل مارپیچ دوتایی برای ساختار دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسید یا همان مولکول DNA، جهان علم را متحیر کردند. **شکل ۱-۱۶** واتسون و کریک را در کنار مدل آنها از DNA، که از گوی و میله ساخته شده بود، نشان می‌دهد. پس از گذشت ۶۰ سال، مدل آنها از یک پیشنهاد نو، به یک تندیس در زیست‌شناسی نوین، تبدیل شده است. DNA، مادهٔ وراثتی و معروف‌ترین مولکول زمان ما می‌باشد. عوامل وراثتی مندلی و ژن‌های مورگان در واقع از DNA ساخته شده‌اند. از نظر شیمیایی، محتوای ژنتیک شما، DNA ای است که از طریق ۴۶ کروموزوم از والدین خود به ارث برده‌اید و میتوکندری‌هایی که از مادر خود دریافت کرده‌اید.

در میان همهٔ مولکول‌های طبیعی، توانایی نوکلئیک اسیدها در همانندسازی خود از مونومرهای سازنده، منحصربه‌فرد است. در واقع، شباهت فرزندان به والدین برپایهٔ همانندسازی دقیق DNA و انتقال آن از یک نسل به نسل دیگر استوار است. اطلاعات وراثتی به زبان شیمیایی در DNA رمز می‌شوند و در همهٔ سلول‌های بدن شما تکثیر می‌گردند. این برنامهٔ DNA است که تکوین بیوشیمیایی، آناتومیکی، فیزیولوژیکی و تا حدی ویژگی‌های رفتاری شما را هدایت می‌کند. در این فصل، شما یاد خواهید گرفت که چگونه زیست‌شناسان دریافتند DNA مادهٔ ژنتیک است، چگونه واتسون و کریک ساختار آن را کشف کردند و چگونه سلول‌ها، DNAی خود (پایهٔ مولکولی وراثت) را همانندسازی و ترمیم می‌کنند و در آخر خواهید دید که چگونه یک مولکول DNA توسط پروتئین‌ها در یک کروموزوم بسته‌بندی می‌شود.

۱۶-۱ DNA مادهٔ ژنتیک است

امروزه، حتی دانش‌آموزان دبستانی نیز نام DNA را شنیده‌اند، و دانشمندان به‌طور روزمره DNA را در آزمایشگاه دستکاری می‌کنند و از آن برای تغییر ویژگی‌های وراثتی سلول‌ها استفاده می‌نمایند. با این‌حال، در اوایل قرن بیستم، شناسایی مولکول‌های وراثتی به‌عنوان چالشی بزرگ برای زیست‌شناسان مطرح بود.

جستجوی مادهٔ ژنتیک: تحقیق علمی

وقتی‌که گروه تی. اچ. مورگان نشان دادند که ژن‌ها بر روی کروموزوم‌ها قرار گرفته‌اند (در فصل ۱۵ توضیح داده شد)، دو ترکیب شیمیایی کروموزوم ـ DNA و پروتئین ـ نامزدهایی مناسب برای مادهٔ ژنتیک بودند. تا دههٔ ۱۹۴۰، بیشتر شواهد، تأئیدکنندهٔ نامزدی پروتئین‌ها بود، مخصوصاً از آنجایی‌که بیوشیمی‌دانان پروتئین‌ها را به‌عنوان دسته‌ای از درشت‌مولکول‌ها با اعمال اختصاصی و تنوع زیاد معرفی کرده بودند که می‌توانست از ویژگی‌های اساسی مادهٔ وراثتی باشد. علاوه بر این، دربارهٔ خواص شیمیایی و فیزیکی نوکلئیک اسیدها اطلاعات کمی وجود داشت تا بتواند توضیحی برای ویژگی‌های وراثتی متعدد جانداران فراهم کند. این دیدگاه به تدریج تغییر کرد، چون آزمایشی با میکروارگانیسم‌ها

منجر به نتایج غیرمنتظره‌ای شد. در کارهای مندل و مورگـان، یکـی از عوامل اساسی در تعیین هویت مـادهٔ ژنتیـک، انتخـاب موجـودات مناسب آزمایشگاهی بود. نقش DNA در وراثـت، نخسـت از طریـق بررسی باکتری‌ها و ویروس‌هایی که آنها را آلـوده مـی‌کننـد، آشـکار شد، زیرا کار با این موجودات بـسیار سـاده‌تـر از گیـاه نخـودفرنگی، مگس سرکه و یا انسان می‌باشد. در ایـن بخـش، برخـی از جزئیـات بررسی مادهٔ ژنتیک را در قالب یـک تحقیـق علمـی دنبـال خـواهیم کرد.

شواهدی برای این موضوع که DNA می‌توانـد بـاکتری‌هـا را ترانسفورم کند

کشف نقش ژنتیکی DNA به سال ۱۹۲۸ برمی‌گـردد. فردریـک گریفیت، پزشک بریتانیایی، دربارهٔ *اسـتریپتوکوکوس نومونیـا* تحقیـق می‌کرد. این باکتری سبب ذات‌الریه در پستانداران می‌شود. گریفیـت بر روی دو سویه (واریته) از این بـاکتری کـار مـی‌کـرد، یـک سـویه بیماری‌زا و سویهٔ دیگر، غیربیماری‌زا (بی‌زیان) بـود. او از ایـن یافتـه متعجب شد که وقتی بـاکتری‌هـای بیمـاری‌زا را بـه‌وسـیلهٔ حـرارت می‌کُشد و سپس بقایای آنها را با باکتری‌هـای غیربیمـاری‌زای زنـده مخلوط مـی‌کنـد، بعـضی از سلول‌هـای زنـده بیمـاری‌زا مـی‌شـوند (**شـــکل ۲-۱۶**). بـه‌عـلاوه، ایـن ویژگـی جدیـدِ بـاکتری‌هـای تغییرشکل‌یافته به زاده‌های آنها نیز منتقل می‌شود. واضح اسـت کـه برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در سلول‌های بیمـاری‌زای مـرده سبب این تغییر ژنتیکی شده است، اگرچه هویت این مادهٔ شـیمیایی شناخته نشد. گریفیت این پدیده را **ترانـسفورماسیون**[1] نامیـد، کـه اکنون به‌عنوان تغییر در ژنوتیپ و فنوتیپ به دلیل جـذب DNAی خـارجی توسـط یـک سـلول تعریـف مـی‌شـود. (کـاربرد کلمـهٔ ترانسفورماسیون نباید با تغییر یک سلول جانوری به یک نوع سـلول سرطانی که در فصل ۱۲ توضیح داده شد، اشتباه شود).

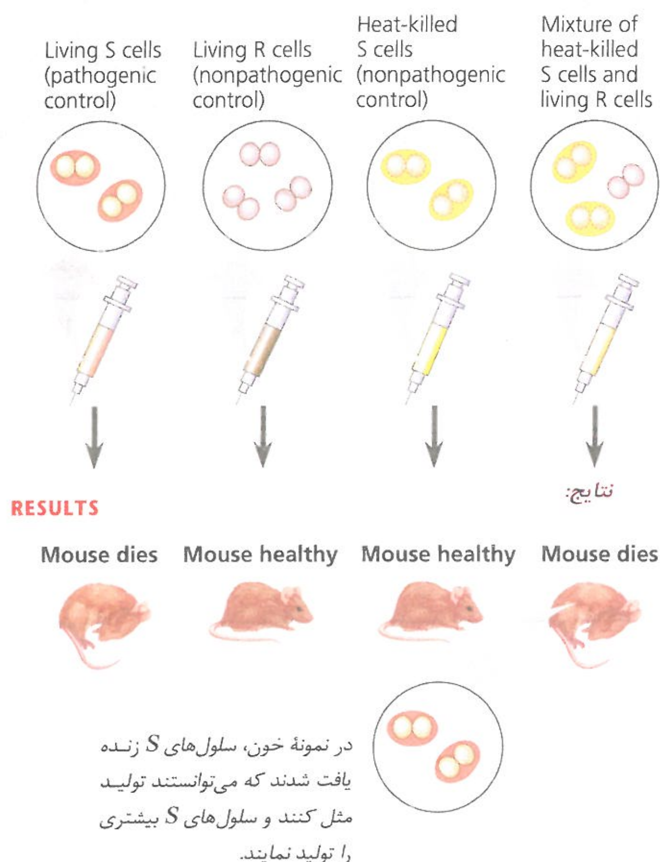
کارهای گریفیت، صحنه را برای یک تحقیق چهارده‌ساله جهـت تعیین مادهٔ تغییردهنـده توسـط بـاکتری‌شـناس آمریکـایی، اُسـوالد ایوری[2]، آماده کرد. ایوری انواع مولکول‌های مختلف را از باکتری‌های بیماری‌زای کشته‌شده با حرارت تخلیص کرد و سپس تلاش نمود تا باکتری‌های غیربیماری‌زای زنده را بـا هـر یـک از ایـن مولکـول‌هـا تغییرشکل دهد که فقط DNA قادر به انجام این کار شد. سـرانجام، در ۱۹۴۴، ایـوری و همکـارانش مـک‌لـین مـک‌کـارتی[3] و کـولین مک‌لود[4]، گزارش دادند که عامل تغییردهنده، DNA است.

1- Transformation
2- Oswald Avery
3- Maclyn McCarty
4- Colin MacLeod

شکل ۲-۱۶ **تحقیق**

آیا یک صفت ژنتیکی می‌تواند بین سویه‌های متفاوت باکتری منتقل شود؟

آزمایش: سویه‌های "S" (صاف) باکتری استرپتوکوکوس نومونیا بیماری‌زا هستند، زیرا این باکتری‌ها کپسولی دارند که آنها را در برابر سیستم دفاعی جانوران محافظـت مـی‌کنـد. سـویه‌هـای "R" (زبـر) بـاکتری، فاقـد کپسول و غیربیمـاری‌زا هـستند. هم‌چنان‌که در شکل زیر نشان داده شـده است، گریفیـت دو سـویه را بـه مـوش‌هـا تزریق کرد.



نتیجه‌گیری: گریفیت به این نتیجه رسید که باکتری‌های زندهٔ R توسط یک مـادهٔ ناشناختهٔ قابل توارث، به باکتری‌های بیماری‌زای S تغییرشکل یافته‌اند: ایـن مـاده از سلول‌های S مرده منتقل شده است.

منبع:

F. Griffith, The significance of pneumococcal types, Journal of Hygiene 27:113-159(1928)

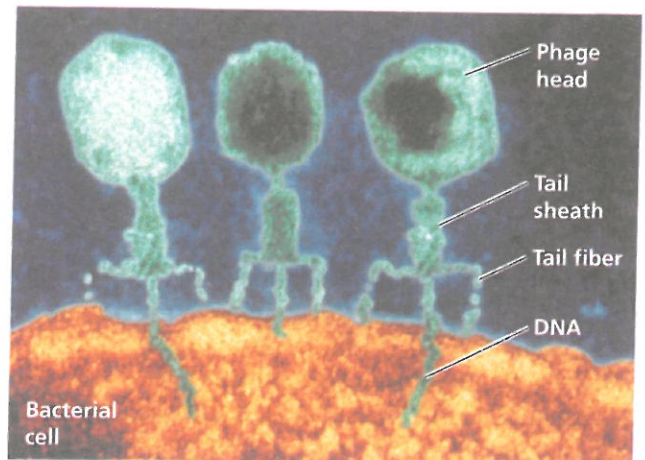
چه می‌شد اگر؟ **این آزمایش چگونه این احتمال را رد می‌کند که سلول‌هـای R کپسول‌های سلول‌های S مرده را استفاده کرده و بیماری‌زا شده‌اند؟**

کشف آنها بسیار با اهمیت بود ولی با تردید زیادی مواجه شد. تا اندازه‌ای این شک به دلیل این باور طولانی بود که پروتئین‌ها را نامزد بهتری برای مادهٔ ژنتیک می‌دانستند. علاوه براین، بسیاری از زیست‌شناسان متقاعد نمی‌شدند که ژن‌های باکتریایی از نظر ترکیب و عمل شبیه به موجودات پیچیده‌تر باشد. اما دلیل اصلی برای ادامهٔ تردید آن بود که دربارهٔ DNA اطلاعات خیلی کمی وجود داشت.

شواهدی که نشان می‌دهد DNAی ویروسی می‌تواند برای سلول‌ها برنامه‌ریزی کند

شواهد بیشتر جهت اثبات DNA به‌عنوان مادهٔ ژنتیک، از طریق مطالعهٔ ویروس‌هایی که باکتری‌ها را آلوده می‌کنند، فراهم شد (**شکل ۳-۱۶**). ویروس‌ها خیلی ساده‌تر از سلول‌ها هستند. یک ویروس شامل DNA (یا گاهی RNA) است که توسط یک پوشش محافظ که اغلب از نوع پروتئین‌های ساده می‌باشد، احاطه شده است. یک ویروس جهت تولیدمثل باید سلولی را آلوده کند و ماشین متابولیسمی آن را در اختیار بگیرد.

ویروس‌هایی که باکتری‌ها را آلوده می‌کنند، به‌طور گسترده‌ای توسط محققان به‌عنوان ابزاری در ژنتیک مولکولی استفاده می‌شوند. این ویروس‌ها، **باکتریوفاژ**[1] (به معنی باکتری‌خوار)، یا فقط **فاژ**[2] نامیده می‌شوند. در ۱۹۵۲، آلفرد هرشی[3] و مارتا چیس[4] آزمایش‌هایی انجام دادند که نشان می‌داد مادهٔ ژنتیک فاژ معروف به T۲، DNA است.



◀ شکل ۳-۱۶ **آلودگی یک سلول باکتریایی توسط ویروس‌ها.** *T۲ و فاژهای وابسته، به سلول میزبان می‌چسبند و مادهٔ ژنتیک خود را تزریق می‌کنند. بخش‌های سر و دم در سطح خارجی باکتری باقی می‌مانند (TEM رنگی).*

1- Bacteriophage
2- Phage
3- Alfred Hershey
4- Martha Chase

T۲ یکی از چندین فاژی است که اشریشیا کُلای (*E. coli*) را آلوده می‌کند، این باکتری به‌طور طبیعی در رودهٔ پستانداران زندگی می‌کند. در آن زمان، زیست‌شناسان از قبل می‌دانستند که T۲، مشابه بیشتر ویروس‌های دیگر، تقریباً فقط از DNA و پروتئین تشکیل شده است. آنها همچنین می‌دانستند که فاژ T۲ می‌تواند به سرعت یک سلول *E. coli* را به یک کارخانهٔ تولیدکنندهٔ T۲ تبدیل کند به‌طوری که وقتی سلول پاره می‌شود، تعداد زیادی از نسخه‌های فاژ را آزاد می‌کند. T۲ بایستی به نحوی برنامهٔ سلول میزبان را تغییر دهد تا بتواند ویروس تولید کند. ولی کدام‌یک از ترکیبات ویروسی- پروتئین یا DNA ـ مسئول این کار است؟

هرشی و چیس پاسخ این سؤال را با طراحی یک آزمایش پیدا کردند. آزمایش نشان داد که در واقع، یکی از دو ترکیب T۲ در طی آلوده‌سازی وارد سلول *E. coli* می‌شود (**شکل ۴-۱۶**). آنها در آزمایش خود، از ایزوتوپ رادیواکتیو سولفور استفاده کردند تا پروتئین‌ها را در یک دسته از فاژهای T۲ نشان‌دار کنند و همچنین از ایزوتوپ رادیواکتیو فسفر برای نشان‌دار کردن DNA در دستهٔ دوم فاژها استفاده نمودند. از آنجایی‌که در پروتئین، گوگرد وجود دارد ولی در DNA یافت نمی‌شود، اتم‌های رادیواکتیو گوگرد فقط در پروتئین فاژ وارد می‌شوند. به‌طور مشابه، اتم‌های رادیواکتیو فسفر فقط DNA را نشان‌دار کردند، چون تقریباً همهٔ فسفر فاژ در DNAی آن است. سپس نمونه‌های مجزایی از سلول‌های غیررادیواکتیو *E. coli*، توسط این دو دسته فاژ T۲ آلوده شدند.

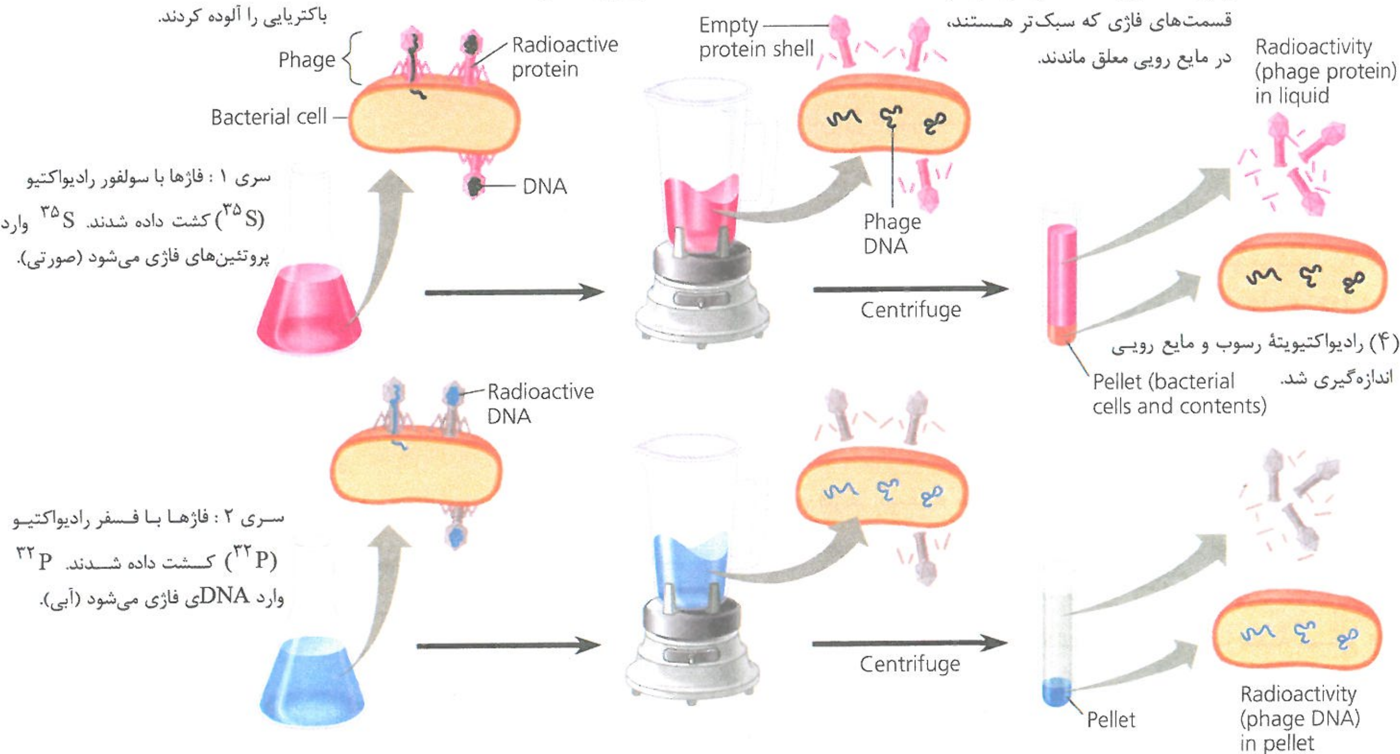
هرشی و چیس دریافتند که وقتی باکتری‌ها توسط فاژهای T۲ حاوی پروتئین نشان‌دار، آلوده شده باشند، بیشتر رادیواکتیویته در محلول بالایی است که در آن فاژها (ولی نه باکتری‌ها) وجود دارند. نتیجهٔ این آزمایش پیشنهاد کرد که پروتئین فاژ وارد سلول‌های میزبان نمی‌شود. اما، وقتی‌که باکتری‌ها توسط فاژهایی که DNAی آنها با رادیواکتیو نشان‌دار شده است، آلوده شده باشند، بیشتر رادیواکتیویته در رسوب زیرین است که حاوی باکتری میزبان می‌باشد. این نتیجه نشان داد که DNAی فاژ داخل سلول‌های میزبان می‌شود. علاوه براین، وقتی‌که این باکتری‌ها به محیط کشت برمی‌گردند، آلودگی پخش می‌شود و *E. coli* فاژهایی را که حاوی مقداری فسفر رادیواکتیو هستند، آزاد می‌کند.

هرشی و چیس نتیجه گرفتند که در طی آلودگی، DNAی ویروس به درون سلول میزبان تزریق می‌شود. DNAی تزریق شده، اطلاعات ژنتیکی را حمل می‌کند که سلول‌های میزبان را وادار به تولید DNAی ویروسی جدید و پروتئین‌ها می‌کند. بنابراین، آزمایش هرشی ـ چیس شواهد مستدلی ارائه داد که نوکلئیک اسیدها (نه پروتئین‌ها)، مادهٔ وراثتی هستند (حداقل در ویروس‌ها).

◀ شکل ۴ - ۱۶ تحقیق

مادهٔ ژنتیک فاژ T۲، DNA است یا پروتئین؟

آزمایش : آلفرد هرشی و مارتا چیس از سولفور و فسفر رادیواکتیو به‌ترتیب برای ردیابی سرنوشت پروتئین و DNAی فاژهای T۲ استفاده کردند. این فاژ سلول‌های باکتریایی را آلوده می‌کند.



نتایج : هنگامی‌که پروتئین‌ها نشان‌دار شدند، رادیواکتیویته در بیرون سلول باقی ماند؛ اما وقتی‌که DNA نشان‌دار شد، رادیواکتیویته درون سلول یافت شد. سلول‌های باکتریایی که DNAی رادیواکتیو فاژ را داشتند، فاژهای جدیدی با مقداری فسفر رادیواکتیو آزاد کردند.

نتیجه‌گیری: DNAی فاژ برخلاف پروتئین وارد سلول باکتریایی شد. هرشی و چیس نتیجه گرفتند که DNA، به‌عنوان مادهٔ ژنتیکی فاژ T۲ عمل می‌کند.

منبع :

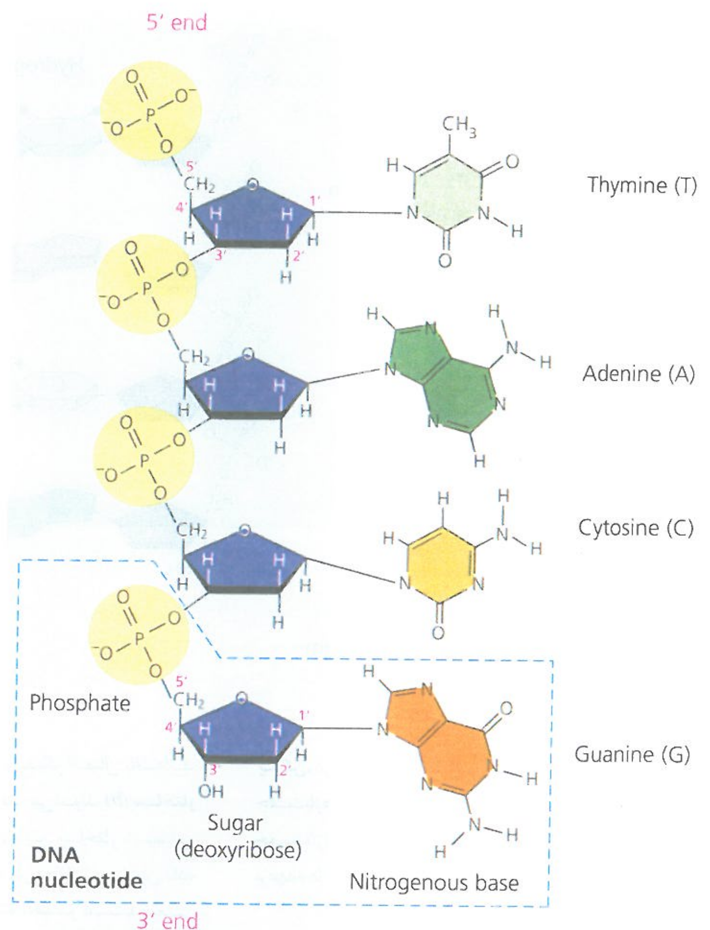
A.D. Hershey and M. Chase, Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage, Jornal of General physiology 36:39-56 (1952).

چه می‌شد اگر ؟ *اگر پروتئین‌ها اطلاعات ژنتیکی را حمل می‌کردند، این نتایج چه فرقی می‌کرد؟*

شواهد بیش‌تر مبنی بر اینکه DNA مادهٔ ژنتیک است

شواهد دیگر برای این که DNA مادهٔ ژنتیک است از آزمایشگاه بیوشیمی‌دانی به‌نام اروین چارگاف به‌دست آمد. قبلاً پی برده بودند که DNA پلی‌مری از نوکلئوتیدهاست. هر نوکلئوتید شامل سه بخش است: یک باز آلی نیتروژن‌دار (حاوی نیتروژن)، یک قند ۵ کربنی به‌نام دئوکسی‌ریبوز، و یک گروه فسفات (**شکل ۵-۱۶**). باز آلی می‌تواند آدنین (A)، تیمین (T)، گوانین (G)، یا سیتوزین باشد.

چارگاف ترکیب بازهای DNA را در تعدادی از موجودات مختلف بررسی کرد. در ۱۹۵۰، او گزارش داد که ترکیب بازهای DNA از یک گونه به گونهٔ دیگر متفاوت است. برای مثال، ۳۰/۳ درصد از نوکلئوتیدهای DNAی انسان، باز آلی A دارد، درحالی‌که DNAی باکتری *E. coli* دارای فقط ۲۶ درصد باز آلی A است. این مدرک که DNA در بین گونه‌ها، دارای تنوع است، DNA را نامزدی قابل قبول برای مادهٔ ژنتیک ساخت.



◀ **شکل ۵ - ۱۶ ساختار یک رشتهٔ DNA.** *هر نوکلئوتید (مونومر) شامل یک باز نیتروژن‌دار (T، A، C یا G)، قند دئوکسی‌ریبوز (آبی)، و یک گروه فسفات (زرد) است. فسفاتِ یک نوکلئوتید به قند نوکلئوتید مجاور متصل می‌شود، در نتیجه، یک «اسکلت» از فسفات‌ها و قندهای متناوب ایجاد می‌شود که در آن از قندها، بازها خارج شده‌اند. رشتهٔ پلی‌نوکلئوتیدی دارای قطبیت از انتهای ′۵ (با گروه فسفات) به انتهای ′۳ (با گروه OH -) می‌باشد. ′۵ و ′۳ اشاره به شماره‌های اختصاصی کربن‌ها در حلقهٔ قند دارد.*

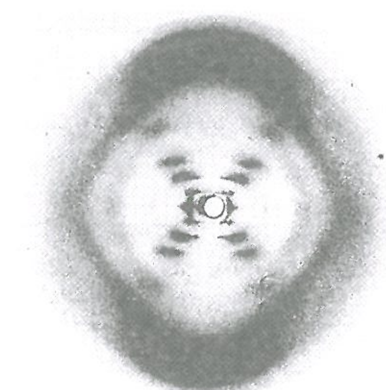
ساختن یک مدل ساختاری برای DNA: تحقیق علمی

زمانی‌که بیشتر زیست‌شناسان متقاعد شدند که DNA مادهٔ ژنتیک است، رقابتی برای تعیین اینکه چگونه ساختار این مولکول نقش ژنتیکی آن را توضیح می‌دهد، سرگرفت. در اوایل دههٔ ۱۹۵۰، آرایش پیوندهای کووالانسی در یک پلی‌مر نوکلئیک اسید به خوبی شناخته شد (شکل ۵-۱۶ را ببینید)، و پژوهشگران بر روی کشف ساختار سه‌بعدی DNA متمرکز شدند. از بین دانشمندانی که روی این مسأله کار می‌کردند، لینوس پاولینگ در کالیفرنیا، موریس ویلکینز و روزالین فرانکلین در لندن بودند، اما دو دانشمند تقریباً ناشناس در آن زمان به پاسخ درست رسیدند ـ جیمز واتسون آمریکایی و فرانسیس کریک انگلیسی.

همکاری برای حل مسألهٔ ساختار DNA از زمانی شروع شد که واتسون سفری به دانشگاه کمبریج داشت. در آنجا کریک ساختار پروتئین را با روش کریستالوگرافی اشعهٔ X بررسی می‌کرد (شکل ۲۴-۵ را ببینید). واتسون هنگام بازدید از آزمایشگاه موریس ویلکینز در کالج سلطنتی لندن، یک تصویر پراش اشعهٔ X از مولکول DNA را که حاصل کار همکار ویلکینز، یعنی روزالین فرانکلین بود، مشاهده کرد (**شکل ۶a-۱۶**). تصاویری که توسط کریستالوگرافی اشعهٔ X حاصل می‌شود، شکل واقعی مولکول‌ها نیستند. نقاط و لکه‌های موجود در **شکل ۶b-۱۶** حاصل پراکنده شدن (انحراف) اشعهٔ X ضمن عبور از رشته‌های DNAی خالص بودند. واتسون با نوعی از الگوی پراش اشعهٔ X که مولکول‌های مارپیچ ایجاد می‌کنند، آشنا بود. بررسی تصویر پراش اشعهٔ X از DNAی فرانکلین، نه فقط به واتسون



(a) Rosalind Franklin

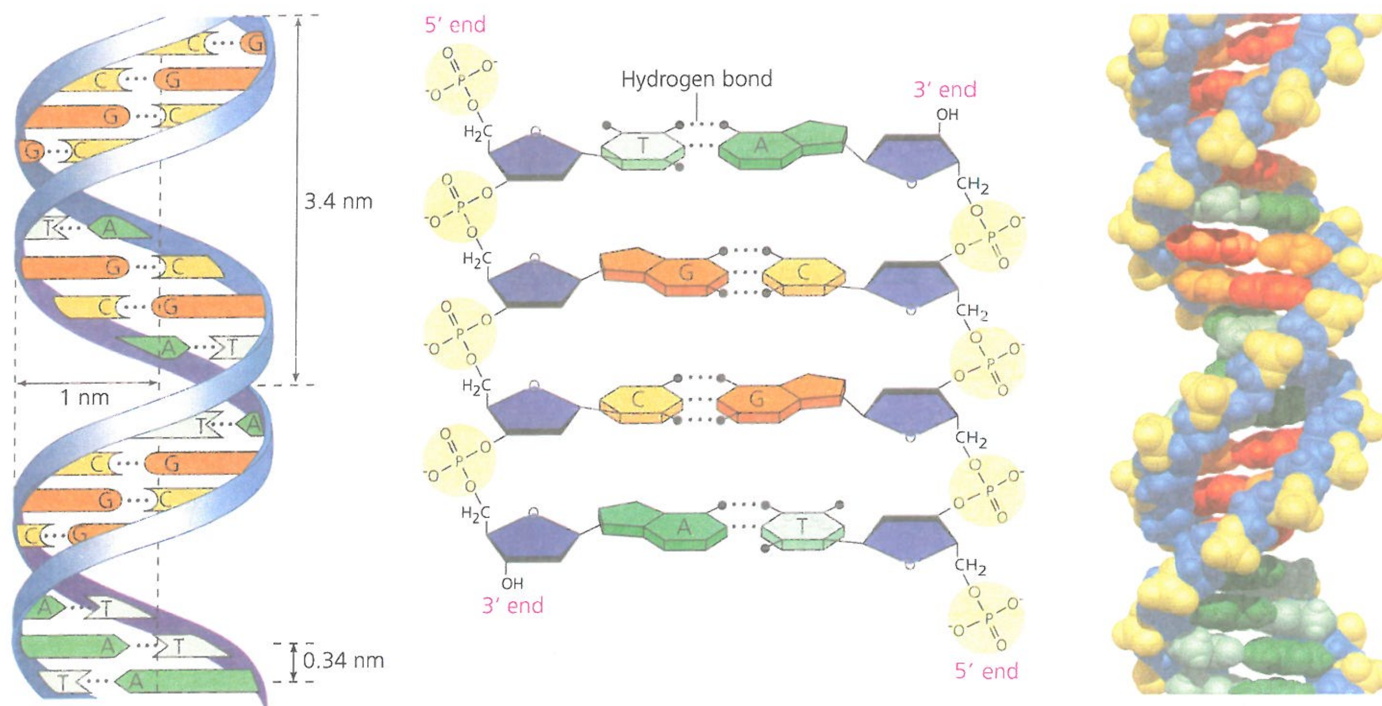


(b) Franklin's X-ray diffraction photograph of DNA

◀ **شکل ۶ - ۱۶ روزالین فرانکلین و تصویر پراش اشعهٔ X از DNA توسط او.** *فرانکلین، یک تصویر کریستالوگرافی اشعهٔ X ایجاد نمود که واتسون و کریک برای استنباط ساختار مارپیچ دوتایی DNA از آن استفاده کردند.*

چارگاف، همچنین یک نظم خاص در نسبت بازهای نوکلئوتیدی یافت. در DNAی هر گونه‌ای که او مطالعه می‌کرد، تعداد آدنین‌ها تقریباً برابر با تعداد تیمین‌ها و تعداد گوانین‌ها تقریباً برابر با تعداد سیتوزین‌ها بود. برای مثال، در DNAی انسان، چهار باز آلی با این درصدها وجود دارد: A =٪۳۰/۳ و T =٪۳۰/۳؛ G =٪۱۹/۵ و C =٪۱۹/۹.

این دو یافته تحت عنوان *قوانین چارگاف* معروف شدند: (۱) ترکیب بازی در بین گونه‌ها متفاوت است، و (۲) در درون یک گونه، تعداد بازهای A و T برابر می‌باشند و تعداد بازهای G و C نیز با هم برابر هستند. اساس این قوانین تا کشف مارپیچ مضاعف، بدون توجیه ماند.



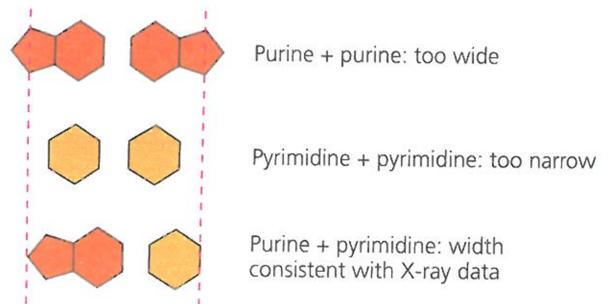
◀ **شکل ۷- ۱۶ مارپیچ دوتایی. (a) ویژگی‌های کلیدی ساختار DNA** «نوارها» در این شکل، اسکلت‌های قند- فسفات دو رشتهٔ DNA را نشان می‌دهند. مارپیچ «راست‌گرد» است، یعنی در جهت بالا، به‌طرف راست می‌چرخد. دو رشته توسط پیوندهای هیدروژنی که بین بازهای نیتروژنی وجود دارند به یکدیگر اتصال یافته‌اند. بازها در داخل مارپیچ دوتایی جفت می‌شوند. **(b) ساختار شیمیایی جزئی.** برای وضوح، در این ساختار شیمیایی جزئی، دو رشتهٔ DNA به‌صورت مارپیچ بازشده، نشان داده شده است. دقت کنید که دو رشته ناهمسو هستند، یعنی آنها در دو جهت مختلف جهت‌یابی کرده‌اند. **(c) مدل فضا پرکن.** در این مدل کامپیوتری، روی هم قرار گرفتن جفت‌بازها مشخص است. نیروهای واندروالس بین جفت‌بازها، نقش اصلی را در نگه‌داشتن مولکول برعهده دارند.

فهماند که شکل DNA مارپیچ است، بلکه او را قادر ساخت تا به قطر مارپیچ و فاصلهٔ بین بازهای نیتروژنی پی ببرد. الگوی موجود در تصویر پیشنهاد می‌کرد که مارپیچ از دو رشته ساخته شده است، و این با مدل سه‌رشته‌ای لینوس پاولینگ که به تازگی پیشنهاد داده بود، در تضاد بود. حضور دو رشته با هم، اصطلاح **مارپیچ دوتایی** را به مولکول DNA داده است (**شکل ۷-۱۶**).

واتسون و کریک شروع به ساختن مدل‌هایی از یک مارپیچ دوتایی نمودند تا اندازه‌گیری‌های اشعهٔ X و شیمی DNA را تأیید نماید. آنها یک گزارش سالیانه از خلاصهٔ کار فرانکلین را خوانده بودند که نتیجه گرفته بود اسکلت قند ـ فسفات در سطح خارجی مارپیچ دوتایی قرار دارد. این وضعیت رضایت‌بخش بود، زیرا بازهای نیتروژنیِ آب‌گریز را در داخل مولکول قرار می‌داد و بدین نحو از محلول آبی اطراف دور می‌ماند. واتسون یک مدل که در آن بازهای نیتروژنی به طرف داخل مولکول قرار گرفته‌اند ارائه داد. در این مدل، دو ستون قند و فسفات **ناهمسو** هستند، یعنی زیرواحدهای آنها در جهات مخالف هم قرار دارند (شکل ۷-۱۶ را ببینید). شما می‌توانید این مدل را به‌صورت یک نردبان تصور کنید. نرده‌ها معادل اسکلت قند ـ فسفات می‌باشند و پله‌ها جفت‌بازها را نشان می‌دهند. حال نردبان را حول یک محور پیچ‌خورده، تصور کنید. اطلاعات اشعهٔ X فرانکلین تأکید داشت که مارپیچ، هر ۳/۴ نانومتر، یک دور کامل در راستای طول خود می‌چرخد. جفت‌بازها، دقیقاً ۰/۳۴ نانومتر از هم فاصله دارند پس ده جفت‌باز در هر دور مارپیچ وجود دارد.

بازهای نیتروژنی مارپیچ دوتایی در یک ترکیب اختصاصی، جفت می‌شوند: آدنین (A) با تیمین (T)، و گوانین (G) با سیتوزین (C). عمدتاً از طریق آزمون و خطا بود که واتسون و کریک به این مشخصهٔ کلیدی DNA رسیدند. در ابتدا، واتسون تصور می‌کرد که بازهای همانند، باهم جفت می‌شوند، برای مثال A با A و C با C. اما، این مدل با اطلاعات اشعهٔ X که پیشنهاد می‌کرد مارپیچ دوتایی قطر یکسانی دارد، هم‌خوانی نداشت. چرا این اطلاعات با جفت‌شدن

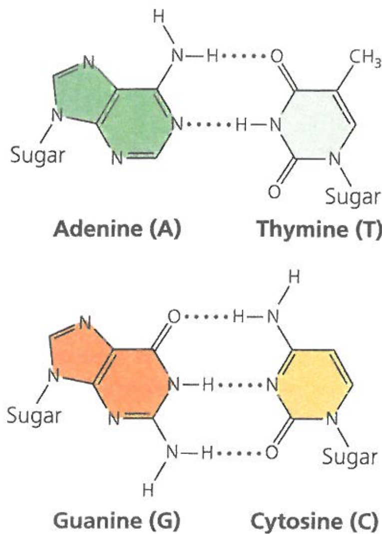
بازهای همانند هم‌خوانی نداشت؟ آدنین و گوانین پورینی هستند، بازهای نیتروژنی که دو حلقهٔ آلی دارند. در عوض، سیتوزین و تیمین متعلق به گروهی از بازهای آلی‌اند که به‌عنوان پیریمیدین شناخته می‌شوند، این بازها یک حلقه دارند. بنابراین، پورین‌ها (A و G) تقریباً دو برابر پیریمیدین‌ها (C و T) قطر دارند. یک جفت پورین - پورین پهن‌تر و یک جفت پیریمیدین - پیریمیدین باریک‌تر از قطر ۲- نانومتری مارپیچ دوتایی است. همیشه یک پورین با یک پیریمیدین جفت می‌شود و در نتیجه قطری یکسان حاصل می‌شود:



واتسون و کریک استدلال نمودند که جفت‌شدن اختصاصی بازها، بایستی توسط ساختار بازها تعیین شده باشد. هر باز آلی گروه‌های شیمیایی جانبی دارد که می‌توانند با باز آلی مناسب پیوند هیدروژنی دهند: آدنین می‌تواند با تیمین (و فقط تیمین) دو پیوند هیدروژنی تشکیل دهد؛ گوانین با سیتوزین (و فقط سیتوزین) سه پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهد. به اختصار A با T، و G با C جفت می‌شود (**شکل ۸-۱۶**).

مدل واتسون و کریک قوانین چارگاف را توجیه می‌کرد. هرکجا در یک رشتهٔ مولکول DNA، یک A باشد، در رشتهٔ مقابل یک T وجود دارد و همیشه گوانین در یک رشته با سیتوزین در رشتهٔ مکمل جفت می‌شود. بنابراین، در DNAی هر جاندار، مقدار آدنین برابر با مقدار تیمین و مقدار گوانین برابر با مقدار سیتوزین است. اگرچه، قوانین جفت شدن بازها، نحوهٔ قرارگیری بازهای نیتروژنی را نشان می‌دهد که پله‌های مارپیچ دوتایی را تشکیل می‌دهند، اما ترتیب آنها در طول یک رشتهٔ DNA محدودیت ندارد. توالی خطی چهار باز آلی می‌تواند متفاوت باشد و ترتیب‌های بی‌شماری را ایجاد کند، هر ژن یک نظم منحصربه‌فرد یا توالی بازی خاصی دارد.

در آوریل ۱۹۵۳، واتسون و کریک جهان علم را با یک مقالهٔ کوتاه یک‌صفحه‌ای در مجلهٔ بریتانیایی نیچر شگفت‌زده کردند.



◀ **شکل ۸-۱۶ جفت شدن بازها در DNA.** *جفت‌بازهای نیتروژنی در یک مارپیچ دوتایی DNA توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل می‌شوند، چنان‌که در اینجا نشان داده شده است.*

*مقاله مدل مولکولی آنها را برای DNA گزارش می‌داد: مارپیچ دوتایی که از آن زمان به بعد تندیس زیست‌شناسی مولکولی شده است. زیبایی مدل در این بود که ساختار DNA، یک مکانیسم پایه‌ای را برای همانندسازی آن پیشنهاد می‌کرد.

پرسش‌های مبحث ۱-۱۶

۱. درصد نوکلئوتیدها در DNAی یک مگس سرکه به‌صورت زیر است: A ۲۷/۳٪، T ۲۷/۶٪، G ۲۲/۵٪ و C ۲۲/۵٪. چگونه این مقادیر، قوانین چارگاف را اثبات می‌کنند؟

۲. یک توالی پلی‌نوکلئوتیدی مانند GAATTC را در نظر بگیرید، آیا می‌توانید انتهای ′۵ آن را مشخص کنید؟ اگر خیر، چه اطلاعات دیگری نیاز دارید تا انتهاهای آن را مشخص کنید؟ (شکل ۵-۱۶ را ببینید.)

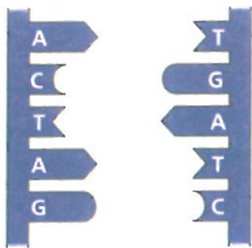
۳. **چه می‌شد اگر؟** اگر ترانسفورماسیون در آزمایش گریفیت رخ نمی‌داد، نتایج چه تغییری می‌کرد؟ توضیح دهید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

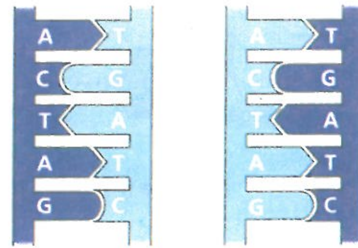
* J. D. Watson and F. H. C. Crick, "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribonucleic acids." *Nature* 171:737-738 (1953).



(a) مولکول والدینی، دو رشتهٔ مکمل از DNA دارد. هر باز توسط پیوند هیدروژنی با شریک اختصاصی خود جفت می‌شود، A با T و C با G.



(b) اولین مرحله در همانندسازی، جدا شدن دورشتهٔ DNA از یکدیگر است. اکنون هر رشتهٔ والدینی به‌عنوان یک الگو به‌کار می‌رود تا ترتیب نوکلئوتیدها را در طول رشتهٔ جدید مکمل تعیین کند.



(c) نوکلئوتیدهای مکمل به‌هم متصل می‌شوند تا اسکلت‌های قند- فسفات رشته‌های جدید را تشکیل بدهند. هر مولکول DNA «دختر» شامل یک رشتهٔ والدینی و یک رشتهٔ جدید است.

◀ شکل ۹- ۱۶ **یک مدل برای همانندسازی DNA** در این تصویر ساده، یک قطعهٔ کوتاه از مارپیچ DNA باز شده که به ساختار یک نردبان شباهت دارد. نرده‌های نردبان، اسکلت‌های قند- فسفات دو رشتهٔ DNA و پله‌ها جفت‌بازهای نیتروژنی هستند. شکل‌های ساده، نماد چهار نوع باز می‌باشند. رنگ آبی تیره، رشته‌های DNAی موجود در مولکول والدینی و رنگ آبی روشن، DNA ی تازه سنتز شده را نشان می‌دهد.

۲-۱۶ پروتئین‌های متعددی در همانندسازی و ترمیم DNA نقش دارند

ارتباط بین ساختار و عمل در مارپیچ دوتایی روشن است. ایدهٔ جفت‌شدن بازهای اختصاصی که در DNA وجود دارد، فکر ابتکاری بود که واتسون و کریک را به مدل صحیح مارپیچ دوتایی هدایت کرد. در همان زمان، آنها به اهمیت عملی قوانین جفت‌شدن بازها پی بردند. آنها مقالهٔ مشهور خود را با این جمله پایان دادند: «این موضوع از نظر ما دور نمانده است که جفت‌شدن اختصاصی بازها، مستقیماً مکانیسم ممکنی را برای تکثیر مادهٔ ژنتیک پیشنهاد می‌کند». در این بخش، شما اصل اساسی همانندسازی DNA را به همراه جزئیات مهم این فرایند خواهید آموخت.

اصل اساسی: جفت‌شدن بازها با یک رشتهٔ الگو

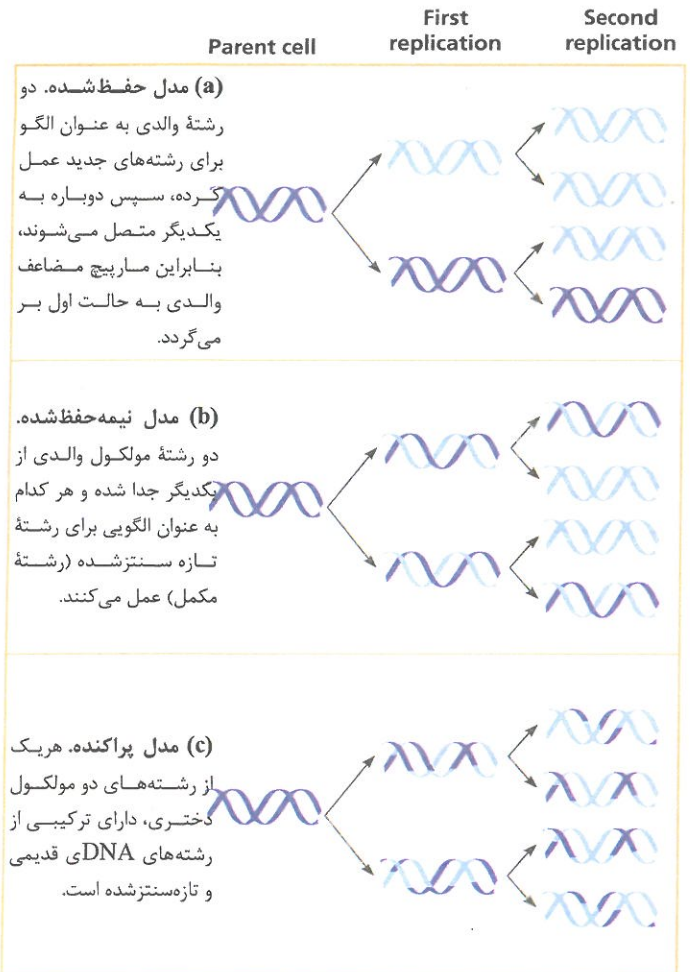
در دومین مقاله، واتسون و کریک فرضیهٔ خود را در مورد چگونگی همانندسازی DNA ارائه دادند:

> هم‌اکنون مدل ما برای دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسید، در واقع یک جفت الگو است که هر کدام مکمل دیگری می‌باشد. ما تصور می‌کنیم که قبل از همانندسازی، پیوندهای هیدروژنی شکسته می‌شوند، پیچ‌خوردگی دو زنجیره از بین می‌رود و دو زنجیره از یکدیگر جدا می‌شوند. سپس هر زنجیره به‌عنوان یک الگو برای تشکیل یک زنجیرهٔ جدید مکمل خود عمل می‌کند. بنابراین، ما نهایتاً دو جفت زنجیره خواهیم داشت، درحالی‌که ما قبلاً فقط یک مولکول داشتیم، پس توالی جفت‌بازها دقیقاً همانندسازی شده‌اند[*].

شکل ۹-۱۶، ایدهٔ اصلی واتسون و کریک را نشان می‌دهد. برای ساده‌تر کردن آن، ما فقط بخش کوچکی از مارپیچ دوتایی را به شکل پیچ‌نخورده نشان می‌دهیم. توجه کنید که اگر شما یکی از دو رشتهٔ DNA در شکل ۹a-۱۶ را بپوشانید، باز هم می‌توانید بازهای آن رشته را با رجوع به رشتهٔ پوشیده‌نشده و قوانین جفت‌شدن بازها، تعیین کنید. دو رشته مکمل یکدیگر هستند؛ هر رشته، اطلاعات لازم برای بازسازی رشتهٔ دیگر را ذخیره می‌کند. وقتی‌که سلولی یک مولکول DNA را کپی می‌کند، هر رشته DNA را به‌عنوان یک الگو برای تعیین ترتیب نوکلئوتیدها در رشتهٔ جدید مکمل به‌کار می‌برد. نوکلئوتیدها در طول رشتهٔ الگو برحسب قوانین جفت‌شدن بازها قرار گرفته و به هم متصل می‌شوند تا رشته‌های جدید را ایجاد کنند. هرجا که یک مولکول مارپیچ دوتایی DNA در شروع فرایند همانندسازی باشد، به زودی به دو مولکول تبدیل می‌شود، که هرکدام یک کپی کامل از مولکول «والد» می‌باشند. مکانیسم کپی‌برداری، مانند استفاده از نگاتیو عکاسی است که یک تصویر مثبت می‌سازد و این تصویر می‌تواند به‌طور معکوس برای ساختن یک تصویر منفی مورد استفاده قرار گیرد، و غیره.

---

* F. H. C. Crick and J. D. Watson, "The Complementary Structure of Deoxyribonucleic Acid." Proc. Roy. Soc. (A) 223: 80 (1954).



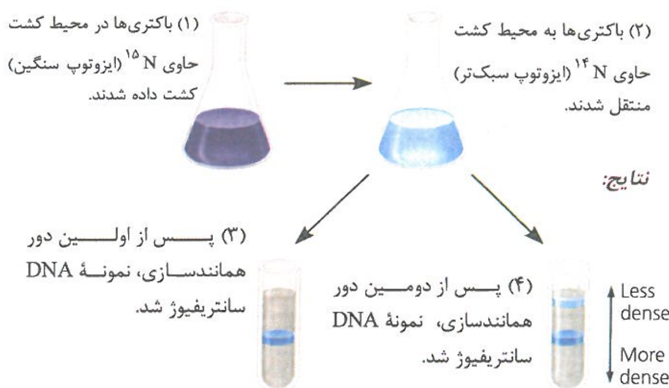
شکل ۱۰- ۱۶ سه مدل مختلف از همانندسازی DNA. *هر قطعهٔ کوتاه از مارپیچ دوتایی، DNAی داخل یک سلول را نشان می‌دهد. با یک سلول والد شروع و DNA را برای دو نسل از سلول‌ها دنبال می‌کنیم، یعنی دو چرخهٔ همانندسازی DNA. DNAی تازه‌ساز آبی روشن است.*

این مدل از همانندسازی، تا چند سال پس از انتشار ساختار DNA، آزمایش‌نشده باقی ماند. آزمایش‌های لازم به نظر ساده ولی در عمل مشکل بود. مدل واتسون و کریک پیش‌بینی می‌کند که وقتی مارپیچ دوتایی همانندسازی می‌کند، هر یک از دو مولکول دختر، یک رشتهٔ قدیمی از مولکول والد و یک رشتهٔ تازه‌ساز دارند. این **مدل نیمه‌حفظ‌شده** می‌تواند از مدل حفظ‌شده تشخیص داده شود، مدلی که در آن پس از فرایند همانندسازی، مولکول والد دوباره تشکیل می‌شود (یعنی، مولکول والد حفظ شده است). با وجود این، در مدل سومی که همانندسازی پراکنده نامیده شد، همهٔ چهار رشتهٔ مولکول DNA، پس از همانندسازی، ترکیبی از DNAی قدیمی و تازه‌ساز دارند (**شکل ۱۰-۱۶**). اگرچه مکانیسم‌های همانندسازی حفظ‌شده و پراکنده طرح ساده‌ای نیست، ولی این مدل‌های احتمالی باقی ماندند تا اینکه دانشمندان توانستند

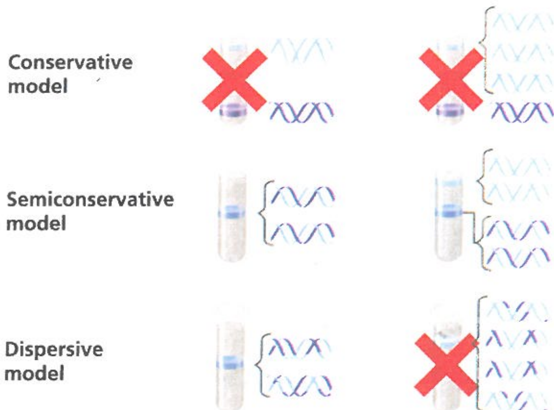
شکل ۱۱- ۱۶ تحقیق

همانندسازی DNA از کدام مدل پیروی می‌کند: حفظ‌شده، نیمه‌حفظ‌شده، یا پراکنده؟

آزمایش: ماتیو مزلسون و فرانکلین اِستال، باکتری‌های E. coli را برای چندین نسل در یک محیط مایع حاوی پیش‌سازهای نوکلئوتیدی که با یک ایزوتوپ سنگین نیتروژن، ^{15}N، نشان‌دار شده بودند، کشت دادند. باکتری‌ها از نیتروژن سنگین در DNAی خود استفاده کردند. سپس این دانشمندان باکتری‌ها را به محیط حاوی ایزوتوپ سبک‌تر نیتروژن، ^{14}N، انتقال دادند. هرکدام از DNAهای جدید که باکتری‌ها سنتز کرده بودند، سبک‌تر از DNAی والدینی بودند که در محیط کشت ۱۵N ساخته شده بود. دو نمونه DNA از این محیط کشت برداشته شد، یکی ۲۰ دقیقه و دیگری ۴۰ دقیقه بعد از نخستین و دومین همانندسازی. مزلسون و اِستال با سانتریفیوژ کردن DNAی استخراج شده از باکتری‌ها، چگالی DNAهای مختلف را می‌توانستند تشخیص بدهند.



نتیجه‌گیری: مزلسون و اِستال نتایج آزمایش خود را با نتایجی که برای هرکدام از سه مدل در شکل ۱۰- ۱۶ پیش‌بینی شده بود، مقایسه کردند. اولین همانندسازی در محیط ^{14}N، یک باند هیبرید (^{15}N-^{14}N) DNA ایجاد کرد. این نتیجه مدل حفظ شده را رد کرد. در دومین همانندسازی، هم باند سبک و هم باند هیبرید DNA ایجاد شد، این نتیجه مدل پراکنده را رد کرد و مدل نیمه‌حفظ‌شده را تأیید نمود.



منبع:

چه می‌شد اگر؟ اگر مزلسون و اِستال قبل از نمونه‌گیری، ابتدا این سلول‌ها را در محیط حاوی ^{14}N کشت داده بودند و سپس آنها را به محیط حاوی ^{15}N منتقل کرده بودند، نتیجهٔ آن آزمایش چه می‌شد؟

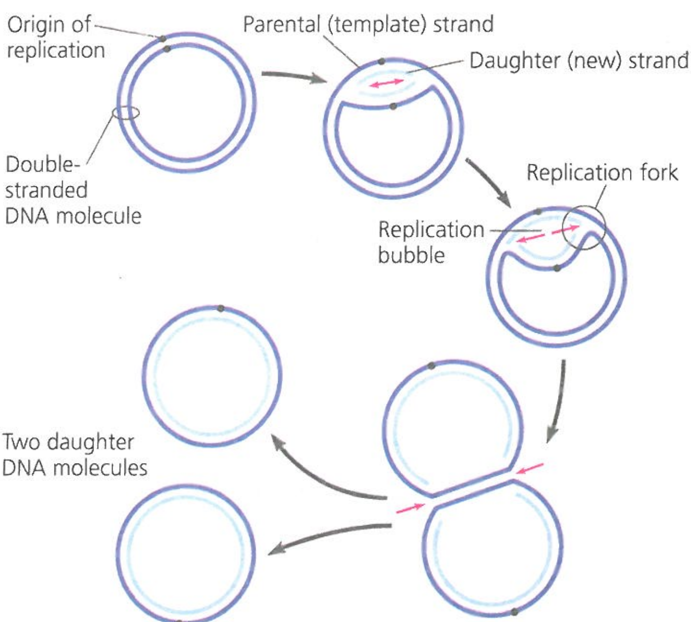
آنها را رد کنند. سرانجام، در اواخر دههٔ ۱۹۵۰، ماتیو مزلسون و فرانکلین استال با ابداع آزمایش‌هایی این سه فرضیه را امتحان کردند. آزمایش‌های آنها مدل همانندسازی نیمه‌حفظ‌شده را که توسط واتسون و کریک پیش‌بینی شده بود، تائید کرد (**شکل ۱۱-۱۶**).

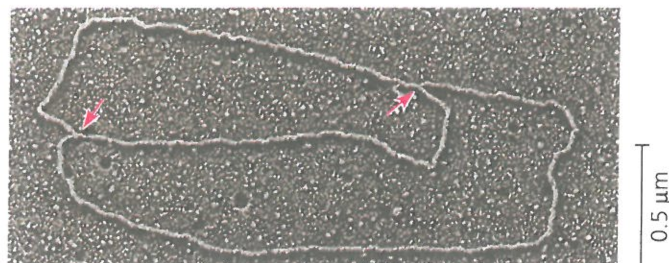
اصل اساسی همانندسازی DNA دقیق و ساده است. با وجود این، بعضی از فرایندهای اصلی درگیر در همانندسازی از نظر بیوشیمیایی پیچیده است، همان‌طور که ما اکنون می‌بینیم.

همانندسازی DNA در یک نگاه دقیق‌تر

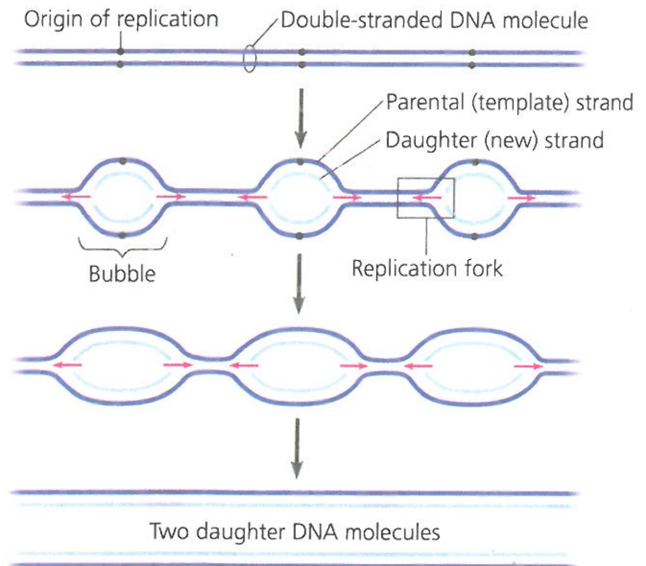
باکتری *E. coli* یک کروموزوم منفرد با حدود ۴/۶ میلیون جفت نوکلئوتید دارد. در محیط مساعد، یک سلول *E. coli*، در کم‌تر از یک ساعت، این DNA را کپی کرده و تقسیم می‌شود تا دو سلول دختر یکسان از نظر ژنتیکی ایجاد شود. هر سلول شما، ۴۶ مولکول DNA در درون هستهٔ خود دارد. یک مولکول مارپیچ دوتایی طویل در هر کروموزوم وجود دارد. در کل، این DNAها حدود شش میلیارد جفت‌باز دارند، که هزار برابر بیش‌تر از DNAی است که در سلول باکتریایی یافت می‌شود. اگر ما نمادهای یک حرفی را برای این بازها (A، G، C و T) به اندازهٔ حروفی که شما اکنون در حال مطالعهٔ آن هستید چاپ می‌کردیم، یعنی اطلاعات شش میلیارد جفت بازی موجود در یک سلول دیپلوئید انسان، در حدود ۱۲۰۰ کتاب به ضخامت این صفحه را پر می‌کرد. با وجود این، یک سلول برای کپی کل این مقدار DNA، فقط چند ساعت وقت صرف می‌کند. همانندسازی این مقدار هنگفت اطلاعات ژنتیکی با خطای ناچیزی انجام می‌شود ـ تقریباً یک نوکلئوتید در ده میلیارد نوکلئوتید. همانندسازی DNA با این سرعت و دقت قابل ملاحظه است.

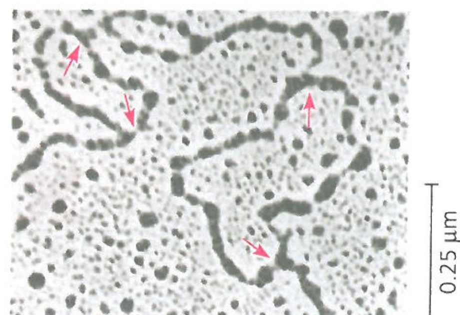
◀ **شکل ۱۲-۱۶ محل‌های شروع همانندسازی در *E. coli* و یوکاریوت‌ها.** *پیکان‌های قرمز حرکت چنگال‌های همانندسازی و همچنین جهت کلی همانندسازی DNA در هر حباب را مشخص می‌کنند.*





(a) در کروموزوم حلقوی E. coli و تعداد زیادی از باکتری‌های دیگر، فقط یک محل شروع همانندسازی وجود دارد. رشته‌های والد در محل شروع همانندسازی از هم باز می‌شوند و یک حباب همانندسازی با دو چنگال همانندسازی تشکیل می‌دهند. همانندسازی در هر دو جهت پیشرفت می‌کند تا زمانی‌که چنگال‌ها در دو طرف به هم برسند و دو مولکول DNAی دختر ایجاد شود. تصویر میکروسکوپ الکترونی، یک کروموزوم باکتریایی را با یک حباب همانندسازی نشان می‌دهد.





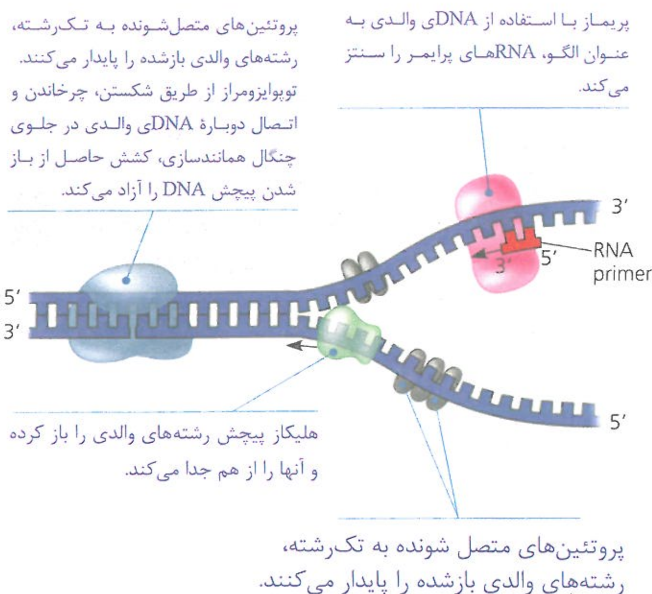
(b) در هر کروموزوم خطی یوکاریوتی، همانندسازی DNA زمانی که حباب‌های همانندسازی در محل‌های متعددی از مولکول DNAی غول‌پیکر تشکیل شوند، شروع می‌شود. همانندسازی از هر دو طرف پیشرفت می‌کند و حباب‌ها بزرگ‌تر می‌شوند. سرانجام حباب‌ها با هم تلاقی می‌کنند و ساخت رشتهٔ دختر پایان می‌پذیرد. تصویر میکروسکوپ الکترونی، سه حباب همانندسازی را در طول DNAی یک سلول کشت داده‌شدهٔ همستر چینی نشان می‌دهد.

بیش از یک دوجین آنزیم و پروتئین‌های دیگر در همانندسازی DNA مشارکت دارند. دربارهٔ عملکرد «ماشین همانندسازی» در پروکاریوت‌ها نسبت به یوکاریوت‌ها شناخت بیش‌تری داریم. ما مراحل اساسی همانندسازی را برای *E. coli* شرح خواهیم داد به جز مواردی که استثنا می‌باشند. دانشمندان بر مبنای آنچه که دربارهٔ همانندسازی DNA آموخته‌اند، پیشنهاد می‌کنند که بیشتر این فرایند، اساساً در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها مشابه است.

محل آغاز همانندسازی

همانندسازی مولکول DNA در مکان‌های ویژه‌ای شروع می‌شود که به آن، **محل آغاز همانندسازی** می‌گویند. محل آغاز همانندسازی، رشتهٔ کوتاهی از DNA است که توالی خاصی از نوکلئوتیدها را دارد. کروموزوم *E. coli*، همانند بسیاری از کروموزوم‌های باکتریایی، حلقوی است و یک محل آغاز همانندسازی دارد. پروتئین‌هایی که همانندسازی DNA را شروع می‌کنند، این توالی را تشخیص داده و به DNA اتصال می‌یابند، سپس دو رشتهٔ DNA را از یکدیگر جدا می‌کنند و یک «حباب» همانندسازی را به‌وجود می‌آورند. سپس همانندسازی DNA در هر دو جهت پیش می‌رود تا اینکه کل مولکول کپی شود (**شکل ۱۲a-۱۶**). برخلاف کروموزوم باکتریایی، یک کروموزوم یوکاریوتی ممکن است صدها یا هزاران محل آغاز همانندسازی داشته باشد. چندین حباب همانندسازی ایجاد می‌شوند و سرانجام درهم ادغام می‌گردند. بنابراین، کپی‌برداری مولکول‌های طویل به سرعت انجام می‌گیرد (**شکل ۱۲b-۱۶**). مشابه باکتری‌ها، همانندسازی DNAی یوکاریوتی از هر محل آغاز همانندسازی، در دو جهت پیش می‌رود.

در هر انتهای یک حباب همانندسازی، یک **چنگال همانندسازی** وجود دارد که یک ناحیهٔ Y- شکل است، که در آن رشته‌های والدی DNA، درحال باز شدن هستند. پروتئین‌های مختلفی در باز کردن رشته‌های DNA ایفای نقش می‌کنند (**شکل ۱۳-۱۶**). **هلیکازها** آنزیم‌هایی هستند که مارپیچ دوگانهٔ DNA را در محل چنگال همانندسازی از هم باز می‌کنند و آنها را آماده می‌کنند تا به‌عنوان رشتهٔ الگو مورد استفاده قرار بگیرند. بعد از باز شدن رشته‌های والد، **پروتئین‌های متصل‌شونده به تک‌رشته**، به رشته‌های DNAی جفت‌نشده متصل می‌شوند و آنها را پایدار می‌کنند. از هم باز شدن رشته‌های DNA باعث می‌شود تا پیچش DNA در جلوی چنگال همانندسازی بیشتر شود. **توپوایزومراز**[1] از طریق شکستن، چرخاندن و دوباره متصل کردن رشته‌های DNA، باعث باز شدن این پیچش می‌شود.



◀ **شکل ۱۳-۱۶ بعضی از پروتئین‌هایی که در شروع همانندسازی DNA دخیلند.** *پروتئین‌های مشابهی در هر دو چنگال همانندسازی موجود در یک حباب همانندسازی فعالیت می‌کنند. برای سادگی بیشتر فقط یک چنگال نشان داده شده است.*

قسمت از هم باز شدهٔ DNAی والدی اکنون آماده است تا به‌عنوان الگو برای ساخت رشته‌های DNAی مکمل مورد استفاده قرار گیرد. اما آنزیم‌هایی که ساخت DNA را برعهده دارند نمی‌توانند ساخت یک پلی‌نوکلئوتید را *آغاز* کنند. آنها تنها قادرند که نوکلئوتیدها را به زنجیره‌ای که از قبل موجود است اضافه کنند. رشتهٔ نوکلئوتیدی اولیه که در طول ساخت DNA تولید می‌شود، در حقیقت، یک زنجیرهٔ کوتاه از RNA است نه DNA. این رشتهٔ RNA، **پرایمر**[2] نامیده می‌شود و توسط آنزیم **پریماز**[3] ساخته می‌شود (شکل ۱۳-۱۶ را ببینید). پریماز، ساخت RNA را از یک نوکلئوتید واحد شروع می‌کند و در هر زمان یک نوکلئوتید به آن اضافه می‌کند و از رشتهٔ DNA به‌عنوان الگو استفاده می‌نماید. پرایمر تکمیل‌شده حدود ۵ تا ۱۰ نوکلئوتید طول دارد و با رشتهٔ الگو جفت است. رشتهٔ DNAی جدید از انتهای ′۳ پرایمر شروع می‌شود.

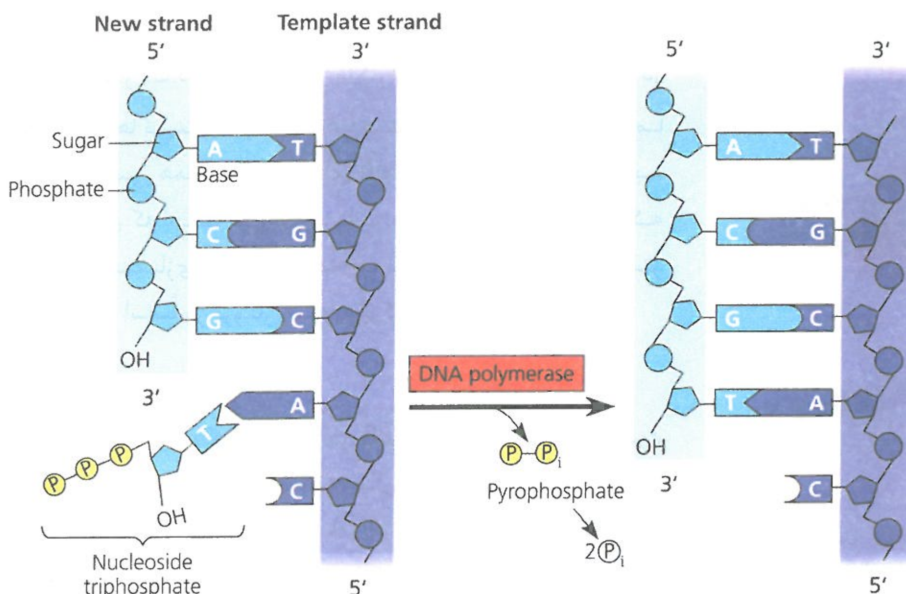
ساخت یک رشته DNA ی تازه

آنزیم‌های **DNA پلی‌مراز**، با افزودن نوکلئوتیدها به زنجیرهٔ موجود قبلی، رشتهٔ جدید را سنتز می‌کنند. چندین DNA پلی‌مراز مختلف در *E. coli* وجود دارد. اما به‌نظر می‌رسد دوتا از این آنزیم‌ها در همانندسازی DNA، نقش اصلی دارند: DNA پلی‌مراز III و

1- Topoisomerase

2- Primer

3- Primase



شکل ۱۴-۱۶ الحاق یک نوکلئوتید به یک رشتهٔ DNA. *DNA پلی‌مراز، یک نوکلئوزید تری‌فسفات را به انتهای ′۳ یک رشتهٔ DNAی در حال رشد، اضافه می‌کند.*

؟ با استفاده از این طرح توضیح دهید که وقتی می‌گوییم هر رشتهٔ DNA جهت‌دار است، منظورمان چیست.

DNA پلی‌مراز I. شرایط همانندسازی در یوکاریوت‌ها با حداقل یازده نوع DNA پلی‌مراز مختلفی که تاکنون کشف شده‌اند، پیچیده‌تر است. اگرچه، اصول عمومی همانندسازی یکسان است.

اغلب DNA پلی‌مرازها احتیاج به یک پرایمر و یک رشته DNAی الگو دارند تا نوکلئوتیدهای مکمل را در امتداد رشتهٔ الگو قرار دهند. در *E.coli*، DNA پلی‌مراز III (به‌طور خلاصه DNA pol III نوشته می‌شود) یک نوکلئوتید DNAای را به RNAی پرایمر می‌افزاید و سپس افزودن نوکلئوتیدهای مکمل رشتهٔ الگوی DNAی والدی را به انتهای در حال رشدِ رشتهٔ جدید DNA ادامه می‌دهد. سرعت طویل شدن حدود ۵۰۰ نوکلئوتید در ثانیه در باکتری‌ها و حدود ۵۰ نوکلئوتید در ثانیه در سلول‌های انسانی است.

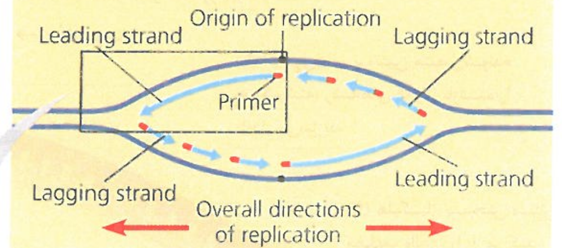
هر نوکلئوتیدی که به یک رشته DNAی در حال رشد اضافه می‌شود، در حقیقت یک نوکلئوزید تری‌فسفات است که یک نوکلئوزید (یک قند و یک باز آلی) با سه گروه فسفات دارد. شما تاکنون با چنین مولکولی به‌نام ATP (آدنوزین تری‌فسفات؛ شکل ۸-۸ را ببینید) مواجه شده‌اید. تنها تفاوت بین ATP و نوکلئوزید تری‌فسفاتی که نوکلئوتید آدنین‌دار را برای DNA تأمین می‌کند، در جزء قندی می‌باشد، که در DNA، قند دئوکسی‌ریبوز، ولی در ATP، ریبوز است. همانند ATP، مونومرهای تری‌فسفاتهٔ مورد استفاده برای سنتز DNA، از نظر شیمیایی واکنش‌پذیرند، زیرا دنبالهٔ تری‌فسفاتی آنها به سبب داشتن بارهای منفی، ناپایدار هستند. وقتی‌که هر مونومر به انتهای یک رشتهٔ در حال رشد اتصال می‌یابد، آن مونومر دو گروه از فسفات‌ها را به‌صورت یک مولکول پیروفسفات ($Ⓟ-Ⓟ_i$) از دست می‌دهد. سپس پیروفسفات هیدرولیز می‌شود تا دو مولکول فسفات غیرآلی ($Ⓟ_i$) را بدهد. این واکنش انرژی‌زا است و انرژی واکنش پلی‌مریزاسیون را تأمین می‌کند (**شکل ۱۴-۱۶**).

طویل شدن ناهمسو

همان‌طور که در سراسر این فصل اشاره کردیم، دو انتهای یک رشتهٔ DNA متفاوت هستند (شکل ۵-۱۶ را ببینید). علاوه براین، دو رشتهٔ مولکول DNA در یک مارپیچ دوتایی، ناهمسو هستند، یعنی آنها در جهت‌های مختلفی نسبت به هم جهت‌یابی کرده‌اند (شکل ۱۴-۱۶ را ببینید). مسلماً، دو رشتهٔ جدیدی که در طی همانندسازی DNA ساخته می‌شوند نیز بایستی نسبت به رشته‌های الگوی خود ناهمسو باشند.

چگونه ساختار ناهمسوی مارپیچ دوتایی بر همانندسازی اثر می‌گذارد؟ DNA پلی‌مرازها نوکلئوتیدها را فقط به انتهای ′۳ آزاد رشتهٔ در حال رشد اضافه می‌کنند و هرگز به انتهای ′۵ اضافه نمی‌کنند (شکل ۱۴-۱۶ را ببینید). بنابراین، یک رشتهٔ جدید می‌تواند فقط در جهت ′۵ ⟵ ′۳ طویل شود. اجازه دهید با توجه به این جهت سنتز، یک چنگال همانندسازی را بررسی کنیم (**شکل ۱۵-۱۶**). DNA پلی‌مراز III در طول یک رشتهٔ الگو حرکت می‌کند و به‌طور پیوسته یک رشتهٔ مکمل جدید را الزاماً در جهت ′۵ ⟵ ′۳ می‌سازد. DNA پلی‌مراز صرفاً در چنگال همانندسازی روی رشتهٔ الگو قرار می‌گیرد و همان‌طور که چنگال پیش می‌رود، این آنزیم نیز به‌طور پیوسته، نوکلئوتیدها را به رشتهٔ مکمل اضافه می‌کند. رشته‌ای از DNA که توسط این مکانیسم سنتز می‌شود، **رشتهٔ رهبر**[1] نامیده می‌شود.

1- Leading strand



(۱) پس از اینکه RNAی پرایمر ساخته شد، DNA pol III سنتز رشتهٔ رهبر را آغاز می‌کند.

Origin of replication

RNA primer

"Sliding clamp"

DNA pol III

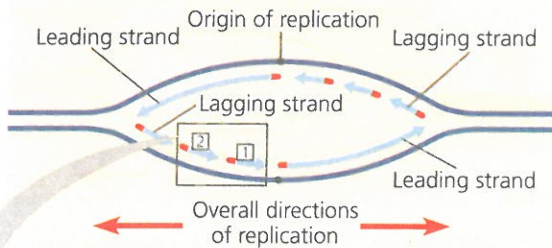
Parental DNA

(۲) با پیشروی چنگال همانندسازی، رشتهٔ رهبر به طور پیوسته در جهت $5' \longrightarrow 3'$ امتداد می‌یابد.

◀ **شکل ۱۵- ۱۶ سنتز رشتهٔ رهبر طی همانندسازی DNA.** این طرح بر روی چنگال همانندسازی سمت چپ، نشان داده شده در جعبهٔ نگاه کلی، تمرکز کرده است. DNA پلی‌مراز III (DNA pol III) ارتباط تنگاتنگی با پروتئینی به نام «گیرهٔ لغزنده» دارد که مارپیچ مضاعف تازه‌ساز را مانند یک حلقه احاطه می‌کند. این گیرهٔ لغزنده DNA پلی‌مراز را در طول رشتهٔ DNAی الگو جابه‌جا می‌کند.

برای طویل شدن رشتهٔ جدید دیگرِ DNA در جهت $5' \longrightarrow 3'$، بایستی DNA پلی‌مراز III برخلاف جهت حرکت چنگال همانندسازی، در طول رشتهٔ الگوی دیگر، حرکت کند. رشته‌ای از DNA که بدین صورت ساخته می‌شود، **رشتهٔ پیرو**[1] نامیده می‌شود. برخلاف رشتهٔ رهبر که به‌طور پیوسته طویل می‌گردد، رشتهٔ پیرو به‌صورت یک سری قطعات سنتز می‌شود. وقتی‌که یک حباب همانندسازی به اندازهٔ کافی باز می‌شود، یک مولکول DNA پلی‌مراز III به الگوی رشتهٔ پیرو می‌پیوندد و از چنگال همانندسازی دور می‌شود تا یک قطعهٔ کوتاه از DNA را سنتز کند. همچنان‌که حباب رشد می‌کند، دیگر قطعات رشتهٔ پیرو نیز می‌توانند با روش مشابهی

1- Lagging strand



(۱) پریماز، نوکلئوتیدهای RNAای را به‌هم متصل کرده و پرایمر را می‌سازد.

Template strand

(۲) DNA pol III، نوکلئوتیدهای DNAای را به این پرایمر افزوده و قطعهٔ اکازاکی ۱ را می‌سازد.

RNA primer for fragment 1

(۳) DNA pol III، پس از اینکه به RNA پرایمر سمت راست رسید، از رشتهٔ الگو جدا می‌شود.

Okazaki fragment 1

(۴) پرایمر قطعهٔ ۲ ساخته می‌شود، آنگاه DNA pol III، نوکلئوتیدهای DNAای را به آن می‌افزاید. هنگامی که DNA pol III به پرایمر قطعهٔ ۱ برسد، جدا می‌شود.

RNA primer for fragment 2

Okazaki fragment 2

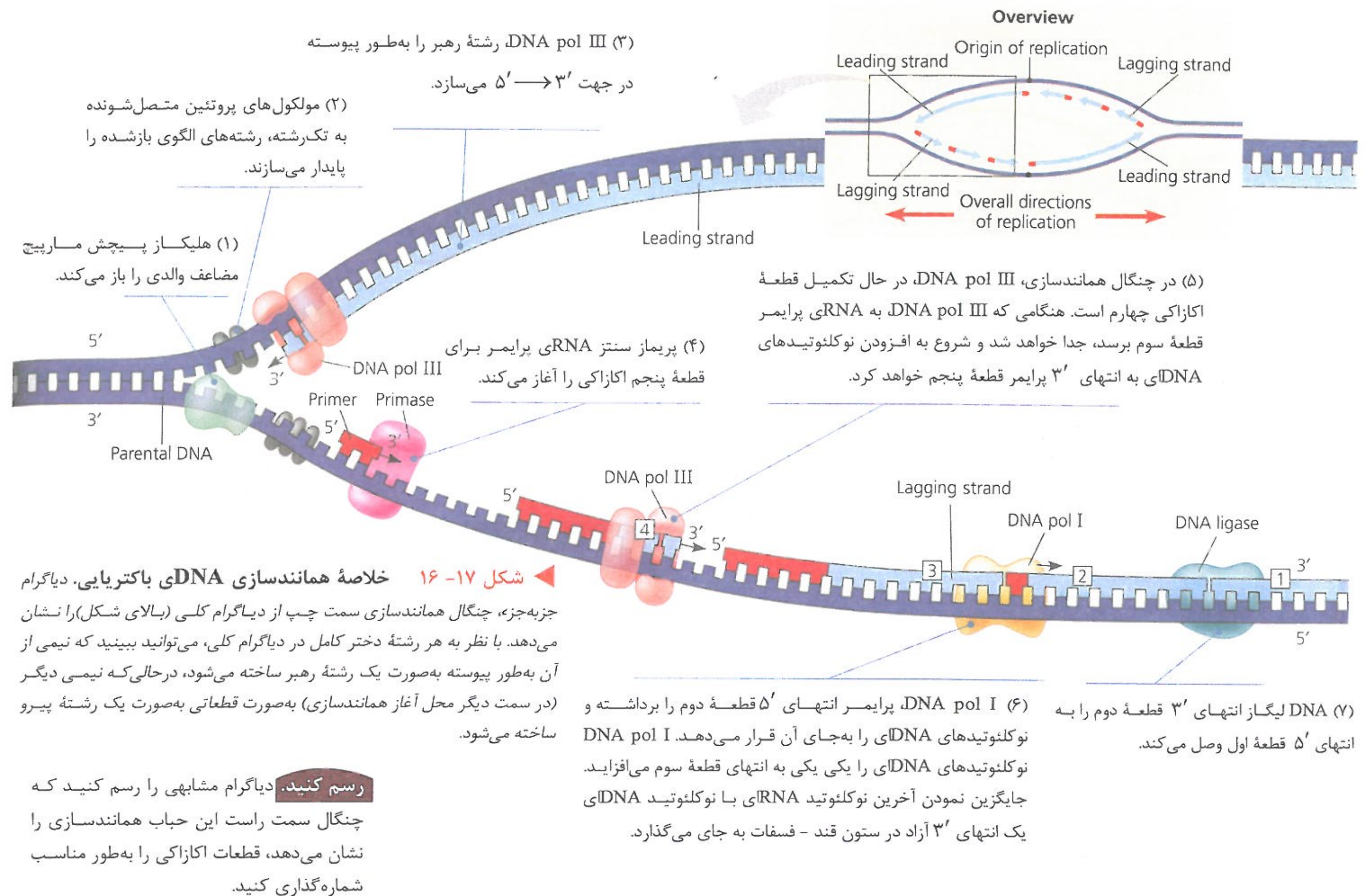
(۵) DNA pol I، نوکلئوتیدهای DNAای را به انتهای ′۳ قطعهٔ ۲ افزوده و به جای RNAی پرایمر، DNA قرار می‌دهد.

(۶) DNA لیگاز بین این DNAی تازه‌ساز و DNAی قطعهٔ ۱، پیوند برقرار می‌کند.

(۷) اکنون رشتهٔ پیرو در این ناحیه، به طور کامل همانندسازی شده است.

Overall direction of replication

◀ **شکل ۱۶- ۱۶ سنتز رشتهٔ پیرو.**



◀ **شکل ۱۷-۱۶ خلاصهٔ همانندسازی DNAی باکتریایی.** *دیاگرام جزبه‌جزء، چنگال همانندسازی سمت چپ از دیاگرام کلی (بالای شکل) را نشان می‌دهد. با نظر به هر رشتهٔ دختر کامل در دیاگرام کلی، می‌توانید ببینید که نیمی از آن به‌طور پیوسته به‌صورت یک رشتهٔ رهبر ساخته می‌شود، درحالی‌که نیمی دیگر (در سمت دیگر محل آغاز همانندسازی) به‌صورت قطعاتی به‌صورت یک رشتهٔ پیرو ساخته می‌شود.*

رسم کنید. دیاگرام مشابهی را رسم کنید که چنگال سمت راست این حباب همانندسازی را نشان می‌دهد، قطعات اکازاکی را به‌طور مناسب شماره‌گذاری کنید.

ساخته شوند. این قطعات رشتهٔ پیرو، بعد از آنکه توسط دانشمند ژاپنی کشف شدند، **قطعات اُکازاکی** نامیده می‌شوند. این قطعات در حدود ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ نوکلئوتید در *E. coli* و ۱۰۰ تا ۲۰۰ نوکلئوتید در یوکاریوت‌ها طول دارند.

شکل ۱۶-۱۶ مراحل ساخت رشتهٔ پیرو را نشان می‌دهد. با آنکه فقط یک پرایمر روی رشتهٔ رهبر نیاز است، هر قطعهٔ اُکازاکی روی رشتهٔ پیرو باید پرایمر جداگانه‌ای داشته باشد (مراحل ۱ و ۴). پس از آنکه DNA پلی‌مراز III یک قطعهٔ اُکازاکی را تشکیل داد (مراحل ۲ تا ۴)، یک DNA پلی‌مراز دیگر، یعنی DNA پلی‌مراز I، نوکلئوتیدهای RNAی پرایمر را با نوکلئوتیدهای DNA جایگزین می‌کند (مرحلهٔ ۵). ولی DNA پلی‌مراز I نمی‌تواند آخرین نوکلئوتید این قطعه DNA را به اولین نوکلئوتید قطعهٔ اُکازاکی که پرایمر آن به تازگی جایگزین شده است، متصل کند. یک آنزیم دیگر، به‌نام **DNA لیگاز**، این کار را انجام می‌دهد. یعنی اسکلت‌های قند ـ فسفات تمام قطعات اُکازاکی را به هم متصل می‌کند تا یک رشتهٔ پیوستهٔ DNA ایجاد شود (مرحلهٔ ۶).

شکل ۱۷-۱۶ همانندسازی DNA را به‌طور خلاصه نشان می‌دهد. قبل از ادامه دادن بحث به دقت آنها را مطالعه کنید.

کمپلکس همانندسازی DNA

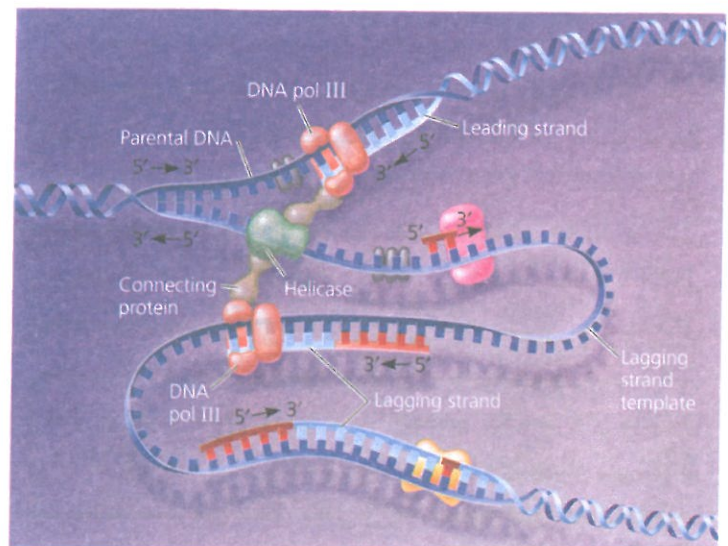
بسیار مناسب و مرسوم است که مولکول‌های DNA پلی‌مراز را به‌عنوان لوکوموتیوهایی در نظر بگیریم که در طول یک «خط راه‌آهن» DNA در حال حرکت‌اند، اما این مدل به دو دلیل مهم نادرست است. نخست، پروتئین‌هایی که در همانندسازی DNA مشارکت دارند، در واقع تشکیل یک ترکیب بزرگ به‌نام «ماشین همانندسازی DNA» را می‌دهند. میانکنش‌های پروتئین— پروتئین، کارآیی این ماشین را بالا می‌برد؛ برای مثال، زمانی‌که هلیکاز در تماس با پریماز است، سریع‌تر کار می‌کند. دوم، احتمالاً ماشین همانندسازی DNA در طی فرایند همانندسازی، ثابت است. در سلول‌های یوکاریوتی ممکن است چندین نسخه از ماشین به‌صورت کارخانه‌هایی گروه‌بندی شده باشند که احتمالاً به ماتریکس هسته (یک شبکه از رشته‌هایی که در سراسر داخل هسته گسترده شده‌اند) متصل‌اند. مطالعات اخیر

از مدلی طرفداری می‌کند که در آن مولکول‌های DNA پلی‌مراز «در ریل» مولکول‌های والدینی قرار می‌گیرند و مولکول‌های دختر تازه‌ساز را خارج می‌کنند. شواهد دیگری پیشنهاد می‌کند که رشتهٔ پیرو در کمپلکس همانندسازی حلقوی می‌شود (**شکل ۱۸-۱۶**).

ویرایش و ترمیم DNA

ما نمی‌توانیم دقت در همانندسازی DNA را صرفاً به جفت‌شدن اختصاصی بازها نسبت دهیم. اگرچه میزان خطاها در کل مولکول DNA، فقط یک در ۱۰ میلیارد نوکلئوتید است، خطاهای اولیهٔ جفت‌شدن نوکلئوتیدهای ورودی با نوکلئوتیدهای رشتهٔ الگو، ۱۰۰,۰۰۰ برابر خطاهای معمول است، یعنی میزان خطا، یک نوکلئوتید در هر ۱۰۰,۰۰۰ جفت‌باز است. در مدت همانندسازی، DNA پلی‌مرازها هر نوکلئوتید را به محض اینکه در مقابل الگوی آن به رشتهٔ در حال رشد اضافه می‌شود، غلط‌گیری می‌کنند. DNA پلی‌مراز وقتی یک نوکلئوتید را که اشتباه جفت شده، پیدا می‌کند، آن را جدا و سپس سنتز را ادامه می‌دهد (این عمل مشابه تصحیح یک اشتباه تایپ‌شده با استفاده از کلید «حذف» و ورود یک حرف صحیح به جای آن است).

گاهی نوکلئوتیدهای اشتباه جفت‌شده، از عمل تصحیح توسط DNA پلی‌مراز می‌گریزند. در **ترمیم ناهمجور**[1]، آنزیم‌ها نوکلئوتیدهای اشتباه جفت‌شده را که در اثر خطاهای همانندسازی ایجاد شده‌اند، حذف کرده و جایگزین می‌کنند. پژوهشگران اهمیت چنین آنزیم‌هایی را زمانی مشخص کردند که دریافتند یک نقص وراثتی در یکی از این آنزیم‌ها، با شکلی از سرطان کولون مرتبط است. ظاهراً، این نقص اجازه می‌دهد تا خطاهای مولد سرطان با سرعتی بالاتر از حد معمول در DNA تجمع یابند.



◀ **شکل ۱۸-۱۶ یک مدل رایج از کمپلکس همانندسازی DNA.** *دو مولکول DNA پلی‌مراز III با یکدیگر در یک کمپلکس عمل می‌کنند. بر روی هر رشتهٔ الگو، یک مولکول DNA pol III عمل می‌کند. DNAی الگوی رشتهٔ پیرو درون این کمپلکس، حلقه تشکیل می‌دهد.*

حفظ اطلاعات ژنتیکی رمزشده در DNA، نیازمند ترمیم دائمی آسیب‌های وارد به DNA می‌باشد. مولکول‌های DNA همان‌طور که ما در فصل ۱۷ بحث خواهیم کرد، همواره در معرض آسیب‌های شیمیایی و فیزیکی قرار دارند. به‌علاوه، بازهای DNA اغلب در شرایط طبیعی سلولی متحمل تغییرات شیمیایی خودبه‌خودی می‌شوند. اگرچه، تغییر در DNA، قبل از آنکه جهش‌های خودبه‌خودی تثبیت شوند، تصحیح می‌شود. هر سلول به‌طور دائم اطلاعات ژنتیکی خود را کنترل و ترمیم می‌کند. چون ترمیم DNAی آسیب‌دیده برای بقای یک جاندار خیلی با اهمیت است، پس تعجب‌آور نیست که آنزیم‌های ترمیمی متفاوتی تکامل یافته باشند. در حدود ۱۰۰ آنزیم در *E. coli* و ۱۳۰ آنزیم ترمیمی در انسان‌ها تاکنون شناسایی شده‌اند.

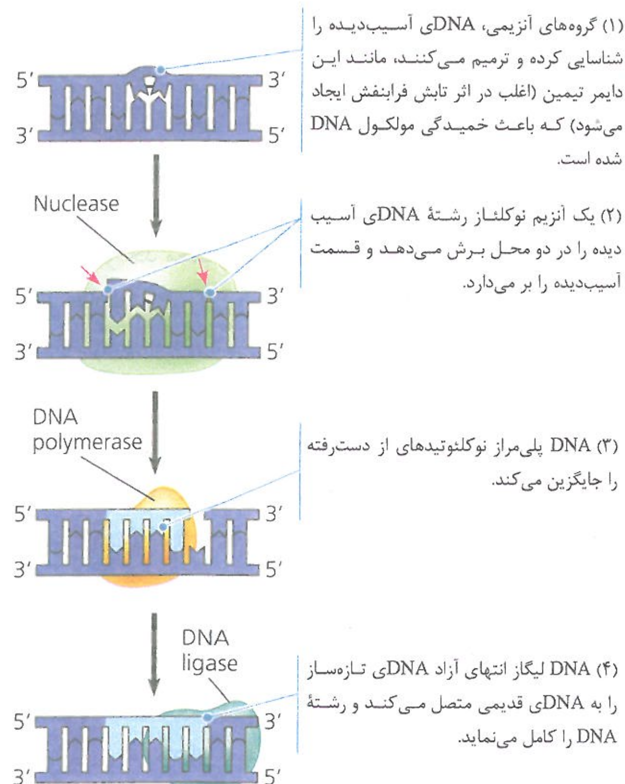
اغلب سیستم‌های ترمیم DNAی آسیب‌دیده، از جفت‌شدن بازها در ساختار DNA سود می‌برند. معمولاً، بخشی از یک رشته که آسیب دیده، توسط یک آنزیم برش‌دهندهٔ DNA - **نوکلئاز** - برداشته می‌شود و فضای خالی حاصل، با استفاده از رشتهٔ غیرآسیب‌دیده به‌عنوان الگو، پر می‌گردد. آنزیم‌های DNA پلی‌مراز و DNA لیگاز در پر کردن فضای خالی نقش دارند. این نوع ترمیم DNA، **ترمیم برش نوکلئوتیدی**[2] نامیده می‌شود (**شکل ۱۹-۱۶**).

یک وظیفهٔ آنزیم‌های ترمیم DNA در سلول‌های پوست ما، ترمیم آسیب ژنتیکی ایجادشده توسط اشعهٔ فرابنفش خورشید است. یک نوع آسیب که در شکل ۱۹-۱۶ نشان داده شده، ایجاد پیوند کووالانسی بین بازهای تیمین مجاور در یک رشتهٔ DNA می‌باشد. این دایمرهای تیمین با ایجاد خمیدگی در DNA، مانع همانندسازی DNA می‌شوند. اهمیت ترمیم این نوع آسیب در بیماری گزرودرما پیگمنتوزوم[3] مشخص می‌شود، که در بیش‌تر موارد به علت یک نقص ژنتیکی در یکی از آنزیم‌های ترمیم برش نوکلئوتیدی ایجاد می‌گردد. افرادی با این نقص ژنتیکی، به نورخورشید بسیار حساس‌اند و جهش‌هایی که توسط نور فرابنفش در سلول‌های پوست آنها ایجاد می‌شود، تصحیح‌نشده باقی می‌ماند، که سبب سرطان پوست می‌شوند.

1- Mismatch repair

2- Nucleotide excision repair

3- Xeroderma pigmentosum



(۱) گروه‌های آنزیمی، DNAی آسیب‌دیده را شناسایی کرده و ترمیم می‌کنند، مانند این دایمر تیمین (اغلب در اثر تابش فرابنفش ایجاد می‌شود) که باعث خمیدگی مولکول DNA شده است.

(۲) یک آنزیم نوکلئاز رشتهٔ DNAی آسیب دیده را در دو محل برش می‌دهد و قسمت آسیب‌دیده را بر می‌دارد.

(۳) DNA پلی‌مراز نوکلئوتیدهای از دست‌رفته را جایگزین می‌کند.

(۴) DNA لیگاز انتهای آزاد DNAی تازه‌ساز را به DNAی قدیمی متصل می‌کند و رشتهٔ DNA را کامل می‌نماید.

◀ شکل ۱۹- ۱۶ **ترمیم برش نوکلئوتیدی در DNAی آسیب‌دیده.**

اهمیت تکاملی نوکلئوتیدهای تغییریافتهٔ DNA

همانندسازی دقیق ژنوم و ترمیم آسیب‌دیدگی DNA، برای عملکرد جاندار و انتقال کامل و دقیق ژنوم به نسل بعدی، اهمیت دارند. نرخ اشتباه پس از تصحیح و ترمیم بسیار پایین است، اما این اشتباهات نادر در مولکول‌های نسل بعد باقی می‌مانند. هنگامی که یک جفت نوکلئوتید غیرمکمل همانندسازی شود، این تغییر توالی در مولکول‌های دختری دائمی می‌شود و این نوکلئوتید اشتباه در این مولکول‌ها و نسخه‌های بعدی باقی می‌ماند. همان‌طور که می‌دانید، تغییر دائمی در توالی DNA، جهش نامیده می‌شود.

همان‌طور که در فصل ۱۷ خواهید آموخت، جهش‌ها می‌توانند فنوتیپ یک جاندار را تغییر دهند. و اگر این جهش‌ها در سلول‌های زایشی (که گامت‌ها را به‌وجود می‌آورند) رخ دهند، می‌توانند نسل به نسل منتقل شوند. اکثر این تغییرات مضر هستند، اما درصد بسیار کمی از آنها مفیدند. در هر دو مورد، جهش‌ها منبع تنوع هستند که انتخاب طبیعی در طی تکامل بر روی آنها عمل می‌کند و در نهایت، این تنوعات موجب ظهور گونه‌های جدید می‌شوند. (در مورد این فرایند در بخش چهار بیشتر خواهید آموخت.) تعادل بین صحت کامل ترمیم یا همانندسازی DNA و نرخ پایین جهش، در دوره‌های زمانی طولانی‌مدت، موجب تکامل گونه‌های بسیار متنوعی شده است که امروزه بر روی کرهٔ زمین می‌بینیم.

همانندسازی دو انتهای مولکول DNA

علی‌رغم اینکه DNA پلی‌مرازها نقش اصلی را در همانندسازی و ترمیم DNA ایفا می‌کنند، ولی بخش کوچکی در DNAی سلولی وجود دارد که DNA پلی‌مرازها نمی‌توانند آن را همانندسازی یا ترمیم کنند. برای یک DNAی خطی، مانند DNAی کروموزوم‌های یوکاریوتی، این مسأله که DNA پلی‌مراز فقط می‌تواند نوکلئوتیدها را به انتهای ′۳ یک پلی‌نوکلئوتید از قبل موجود اضافه کند، مشکل‌ساز است. ماشین همانندسازی معمول برای تکمیل انتهای ′۵ رشته‌های DNAی دختر هیچ راهی را در اختیار ندارد. حتی اگر یک قطعهٔ اُکازاکی با پرایمری شروع شود که آن پرایمر دقیقاً متصل به انتهای رشتهٔ الگو باشد، وقتی‌که این پرایمر حذف می‌شود، نمی‌تواند با DNA جایگزین شود، زیرا انتهای ′۳ که DNA پلی‌مراز بتواند نوکلئوتیدهای DNA را به آن اضافه کند، وجود ندارد (**شکل ۲۰-۱۶**). بنابراین در اثر تکرار چرخه‌های همانندسازی، مولکول‌های DNA، کوتاه و کوتاه‌تر می‌شوند.

در پروکاریوت‌ها چنین مشکلی وجود ندارد، زیرا DNAی بیشتر آنها حلقوی است (بدون انتهای آزاد)، ولی ژن‌های یوکاریوتی چگونه طی دوره‌های متوالی همانندسازی DNA، محافظت می‌شوند؟ مولکول‌های DNAی کروموزوم‌های یوکاریوتی، دارای توالی‌های نوکلئوتیدی در دو انتهای خود هستند که **تلومر**[1] نامیده می‌شوند (**شکل ۲۱-۱۶**). تلومرها دارای ژن نمی‌باشند؛ در عوض، DNAی آنها معمولاً شامل چندین نسخهٔ تکراری از یک توالی کوتاه نوکلئوتیدی است. به‌عنوان مثال، واحدهای تکراری در تلومرهای انسان، توالی شش نوکلئوتیدی TTAGGG می‌باشد. تعداد واحدهای تکراری در یک تلومر، تقریباً از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ بار نوسان دارد. DNAی تلومری از تخریب شدن ژن‌های جاندار در طی چرخه‌های همانندسازی متوالی ممانعت می‌کند. به‌علاوه، DNAی تلومری و پروتئین‌های متصل به آن، از فعال شدن سیستم‌های ترمیم DNA که در اثر انتهاهای تک‌رشته‌ایِ مولکول‌های دختر فعال می‌شوند جلوگیری می‌کنند. (انتهاهای تک‌رشته‌ای مولکول DNA که اغلب در اثر شکست‌های دورشته‌ای ایجاد می‌شوند، می‌توانند مسیرهای انتقال پیامی را راه بیاندازند که منجربه توقف چرخهٔ سلولی یا مرگ سلولی می‌شود.)

تلومرها تخریب ژن‌های نزدیک به انتهای مولکول DNA را به تعویق می‌اندازند. همچنان‌که در شکل ۲۰-۱۶ نشان داده شده است، تلومرها در هر دور همانندسازی کوتاه‌تر می‌شوند. چنانچه

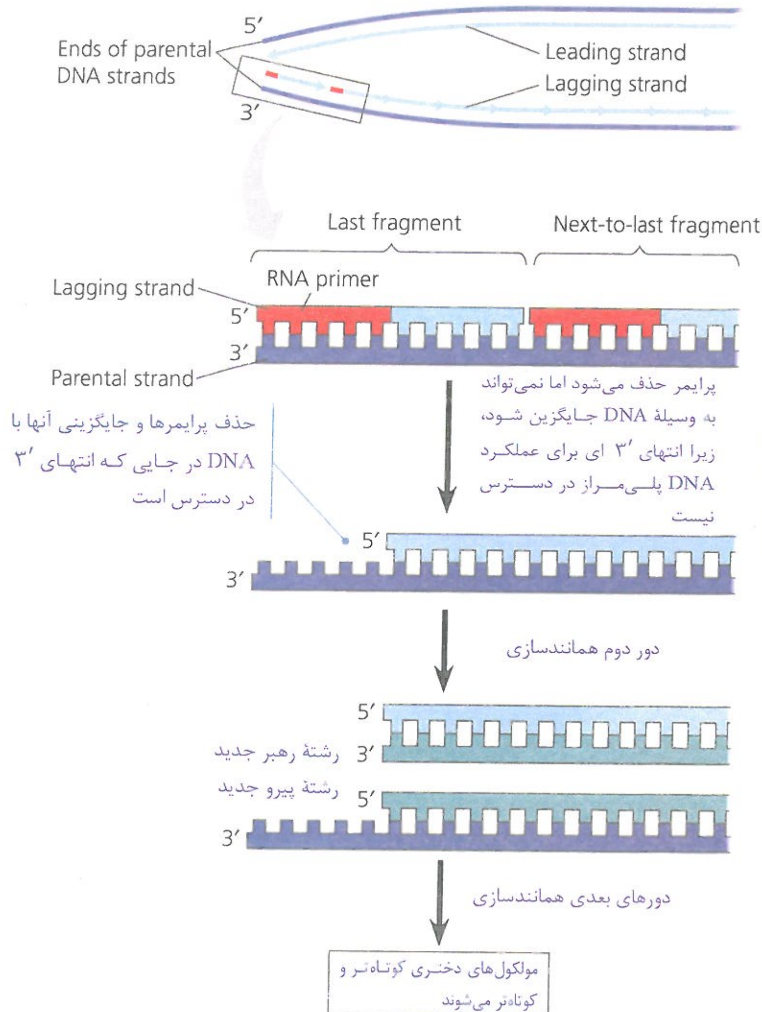
1- Telomere

انتظار می‌رود، DNA تلومریِ سلول‌های پیکریِ در حال تقسیم در افراد مسن‌تر و سلول‌هایی که در محیط کشت چندین‌بار تقسیم شده‌اند، تمایل به کوتاه شدن دارند. پیشنهاد شده است که کوتاه شدن تلومرها در ارتباط با فرایند پیری در بعضی از بافت‌ها و به‌طور کلی عمر جاندار است.

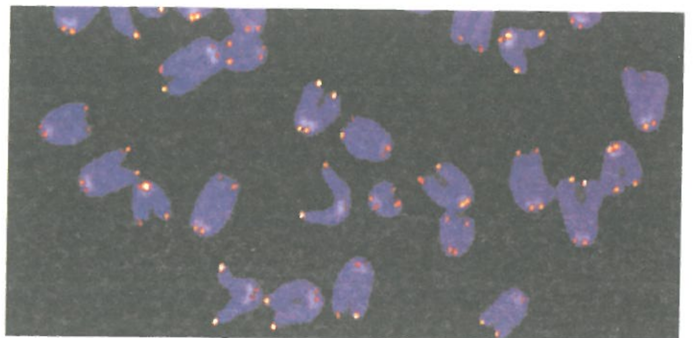
ولی وضعیت در مورد ژنوم سلول‌هایی که باید از یک جاندار به فرزندان آنان در طی چندین نسل بدون تغییر باقی بماند، چطور است؟ اگر کروموزوم‌های سلول‌های زایشی (که به گامت تبدیل می‌شوند) در هر چرخهٔ سلولی کوتاه‌تر شوند، سرانجام ژن‌های اصلی در گامت‌هایی که آنها تولید می‌کنند، حذف می‌شوند. اما، این عمل رخ نمی‌دهد: یک آنزیم که **تلومراز**[1] نامیده می‌شود، طویل کردن تلومرها را در سلول‌های زایندهٔ یوکاریوتی کاتالیز می‌کند، بنابراین تلومرها به طول اولیهٔ خود می‌رسند و کوتاه شدنی که در طی همانندسازی DNA رخ می‌دهد، جبران می‌شود. تلومراز در بیش‌تر سلول‌های پیکری غیرفعال است، ولی در سلول‌های زایشی فعال می‌باشد و در زیگوت، تلومرها بیش‌ترین طول را دارند.

شاید کوتاه شدن تلومرها، جانداران را از ابتلا به سرطان به‌وسیلهٔ کاهش تعداد تقسیم‌هایی که سلول‌های پیکری می‌توانند انجام دهند، حفظ کند. اغلب سلول‌های تومورهای بزرگ، تلومرهای کوتاه غیرمعمول دارند، چنان‌چه برای سلول‌هایی که تقسیم‌های سلولی بسیاری را انجام می‌دهند، این انتظار را داریم. احتمالاً کوتاه شدن بیش‌تر تلومر منجر به خود- تخریبی سلول‌های سرطانی می‌شود. محققین فعالیت تلومرازی را به‌طور چشم‌گیری در سلول‌های پیکری سرطانی یافته‌اند و پیشنهاد می‌کنند که توانایی آنزیم در حفظ طول تلومر، احتمالاً سبب بقای سلول‌های سرطانی شده است. به نظر می‌رسد که بسیاری از سلول‌های سرطانی توانایی نامحدودی در تقسیم سلولی دارند، مانند سلول‌های نامیرا که در کشت سلولی تقسیم می‌شوند. اگر تلومراز یک عامل مهم در ایجاد سرطان‌ها باشد، می‌تواند احتمالاً یک هدف باارزش را برای تشخیص و شیمی‌درمانی سرطان‌ها فراهم کند.

در این فصل، شما در مورد ساختار و همانندسازی مولکول DNA آموختید. در قسمت بعدی خواهیم دید که DNA چگونه در داخل کروموزوم، ساختاری که اطلاعات ژنتیکی را حمل می‌کند، بسته‌بندی می‌شود.

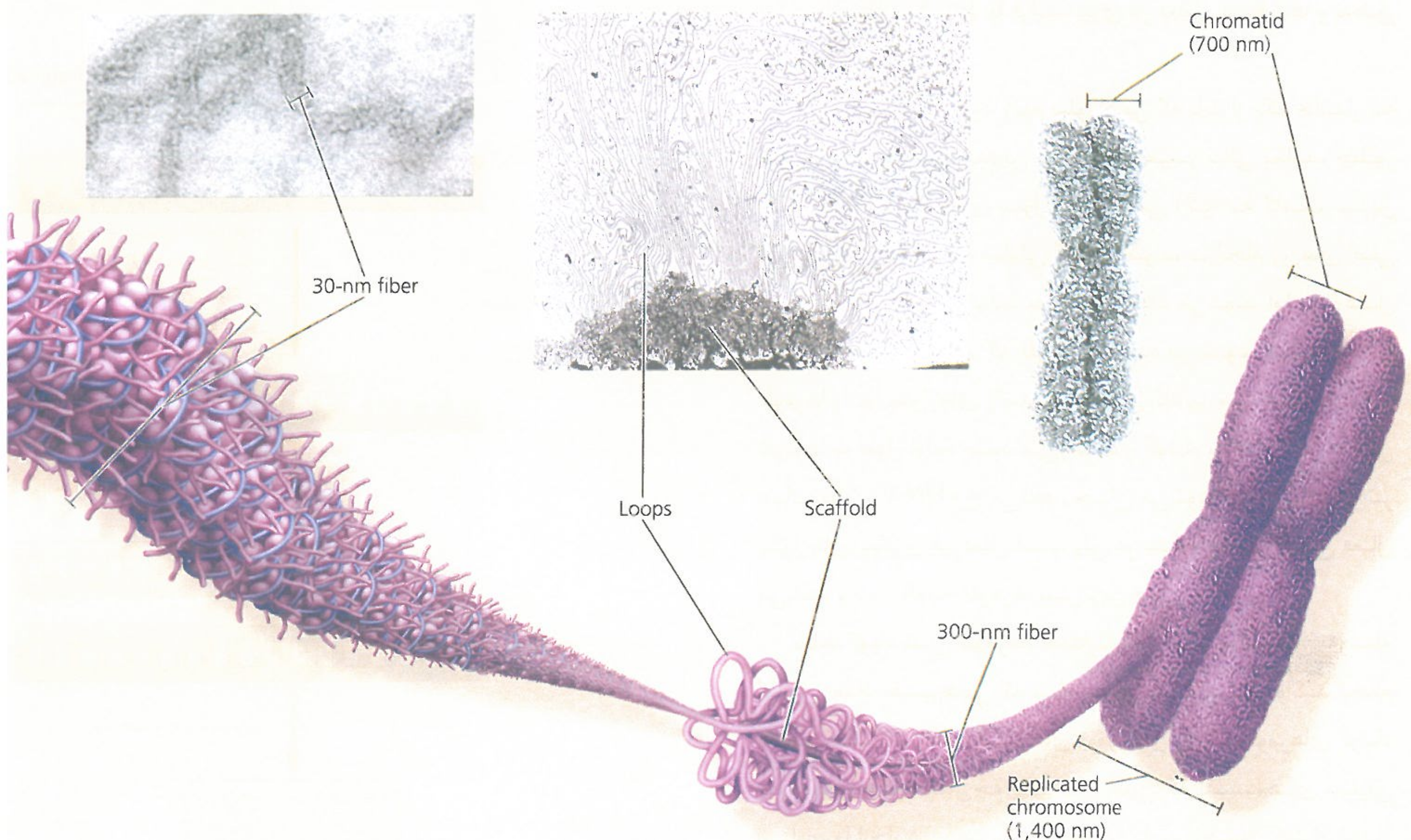


▶ **شکل ۲۰ - ۱۶ کوتاه شدن دو انتهای مولکول‌های DNA خطی.** *ما در این‌جا، انتهای یک رشته از مولکول DNA را در طی دو چرخهٔ همانندسازی دنبال می‌کنیم. پس از اولین چرخهٔ همانندسازی، رشتهٔ جدید پیرو کوتاه‌تر از الگوی خودش می‌شود. پس از دومین چرخهٔ همانندسازی، رشته‌های پیرو و رهبر کوتاه‌تر از DNAی والدینی اولیه می‌گردند. انتهای دیگر این مولکول‌های DNA نیز کوتاه‌تر می‌شوند، اگرچه در اینجا نشان داده نشده‌اند.*



▶ **شکل ۲۱ - ۱۶ تلومرها.** *یوکاریوت‌ها در انتهای DNAی خود، دارای توالی‌های فاقد رمز و تکراری می‌باشند که تلومر نامیده می‌شوند. تلومرها در این کروموزوم‌های موش توسط یک رنگ نارنجی روشن، نشانه‌گذاری شده‌اند.*

1- Telomerase



فیبر ۳۰ نانومتری

سطح بعدیِ بسته‌بندی کروماتین، حاصل میانکنش‌های بین دُم‌های هیستونی یک نوکلئوزوم و DNAی رابط و نوکلئوزوم‌های دو طرف است. هیستون پنجم، H۱، در این سطح نقش دارد. این میانکنش‌ها باعث می‌شوند فیبر ۱۰ نانومتری طویل، پیچ‌خوردگی یا تاخوردگی پیدا کند و فیبر کروماتینی را با قطری حدود ۳۰ نانومتر به‌وجود آورد (*فیبر ۳۰ نانومتری*). اگرچه فیبر ۳۰ نانومتری در هستهٔ اینترفازی کاملاً متداول است، اما آرایش بسته‌بندی نوکلئوزوم‌ها در این شکل از کروماتین، هنوز تا حدودی مورد تردید است.

دُمین‌های حلقوی (فیبرهای ۳۰۰ نانومتری)

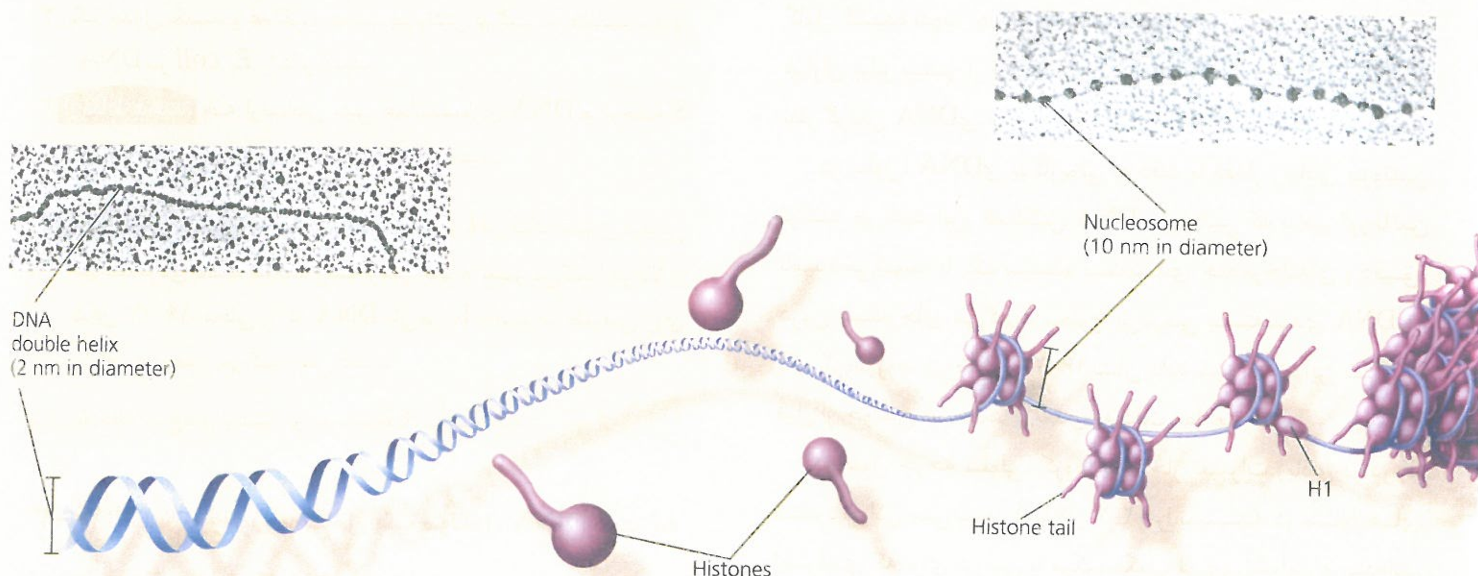
فیبر ۳۰ نانومتری نیز به نوبهٔ خود، حلقه‌هایی به‌نام *دمین‌های حلقوی* تشکیل می‌دهد که به یک داربست کروموزومی متشکل از پروتئین‌ها، متصل می‌شود و بدین‌گونه *فیبر ۳۰۰ نانومتری* را به‌وجود می‌آورد. این داربست غنی از یک نوع توپوایزومراز است و ظاهراً مولکول‌های H۱ نیز در آن وجود دارند.

کروموزوم متافازی

در یک کروموزوم میتوزی، دمین‌های حلقوی به روشی که هنوز به طور کامل شناخته نشده، پیچ‌خوردگی و تاخوردگی پیدا می‌کنند. فشردگی بیشتر کروماتین، کروموزوم ویژهٔ متافازی را به‌وجود می‌آورد که در ریزنگار بالا نشان داده شده است. عرض یک کروموزوم ۷۰۰ نانومتر است. اینکه ژن‌های به‌خصوص همواره در یک مکان قرار دارند، نشان می‌دهد که گام‌های بسته‌بندی کروماتین، بسیار اختصاصی و دقیق هستند.

◀ شکل ۲۲- ۱۶
بررسی بسته‌بندی کروماتین در یک کروموزوم یوکاریوتی

این دیاگرام‌ها و ریزنگارهای الکترونی گذاره، یک طرح معمول از سطوح پیچ‌خوردگی و تاخوردگی DNA را نشان می‌دهند. این تصویر، یک مولکول منفرد DNA را تا یک کروموزوم متافازی در نمای بزرگ نشان می‌دهد. کروموزوم به اندازهٔ کافی بزرگ است تا توسط میکروسکوپ نوری دیده شود.



DNA، مارپیچ مضاعف

در اینجا مدل روبانی DNA نشان داده شده است. هر روبان، یک ستون قند – فسفات را نشان می‌دهد. همان‌طور که از شکل ۷-۱۶ به خاطر می‌آورید، گروه فسفات در این ستون، در سمت بیرون هر رشته دارای بار منفی است. ریزنگار الکترونی گذاره یک مولکول DNAی برهنه را نشان می‌دهد؛ مارپیچ مضاعف به تنهایی ۲ نانومتر پهنا دارد.

هیستون‌ها

پروتئین‌هایی به‌نام **هیستون‌ها** مسئول اولین سطح بسته‌بندی کروماتین هستند. اگرچه هریک از هیستون‌ها کوچک هستند – هر هیستون تنها حدود ۱۰۰ آمینواسید دارد – جرم کلی هیستون‌های کروماتین، تقریباً برابر با جرم DNA است. بیش از یک پنجم آمینو اسیدهای هیستون‌ها دارای بار مثبت هستند (لیزین یا آرژنین) و از این رو به‌طور محکم به بارهای منفی DNA متصل می‌شوند.

چهار نوع از هیستون‌ها در کروماتین معمول‌تر هستند: H۲A، H۲B، H۳ و H۴ این هیستون‌ها شباهت بسیاری در بین یوکاریوت‌ها دارند؛ به عنوان مثال، تنها دوتا از آمینواسیدهای H۴ بین گاو و نخودفرنگی متفاوت هستند و بقیهٔ آمینواسیدها یکسانند. این به‌ظاهر حفظ‌شدگیِ ژن‌های هیستون‌ها در طی تکامل احتمالاً نقش مهم هیستون‌ها را در سازمان‌یابی DNA در درون سلول‌ها نشان می‌دهد. چهار نوع اصلی هیستون‌ها برای سطح بعدیِ بسته‌بندی DNA ضروری‌اند. (نوع پنجم هیستون‌ها که H۱ نامیده می‌شود در گام بعدی بسته‌بندی نقش دارد.)

نوکلئوزوم‌ها، یا «دانه‌های تسبیح» (فیبر ۱۰ نانومتری)

کروماتین بازشده در ریزنگارهای الکترونی حدود ۱۰nm قطر دارد (فیبر ۱۰ نانومتری). این کروماتین شبیه تسبیح است (TEM را ببینید). هر «دانهٔ تسبیح» یک **نوکلئوزوم** (واحد اصلی بسته‌بندیِ DNA) است؛ رشتهٔ بین دانه‌ها *DNAی رابط* نامیده می‌شود.

یک نوکلئوزوم از DNAای که دو دور به دور یک هستهٔ پروتئینی پیچیده شده، تشکیل شده است. هستهٔ پروتئینی دارای ۲ مولکول از چهار نوع پروتئین هیستون اصلی است. انتهای آمینو (انتهای N) هر هیستون یا دُم هیستون از نوکلئوزوم بیرون زده است.

در چرخهٔ سلولی، این هیستون‌ها تنها در طی همانندسازی DNA، مختصراً از DNA جدا می‌شوند. به طور کلی، در طی رونویسی نیز این اتفاق رخ می‌دهد. در طی رونویسی نیز بایستی ماشین مولکولی سلول به DNA دسترسی داشته باشد. در فصل ۱۸ برخی یافته‌های اخیر در مورد نقش دُم‌های هیستونی و نوکلئوزوم‌ها در تنظیم بیان ژن، شرح داده خواهند شد.

پرسش‌های مبحث ۲-۱۶

۱. جفت‌شدن بازهای مکمل، چه نقشی را در همانندسازی DNA بازی می‌کند؟

۲. یک جدول بکشید و عملکرد هفت پروتئین درگیر در همانندسازی DNA در *E. coli* را ذکر کنید.

۳. **ارتباط دهید.** چه ارتباطی بین همانندسازی DNA و مرحلهٔ S چرخهٔ سلولی وجود دارد؟ شکل ۶-۱۲ را ببینید.

۴. **چه می‌شد اگر؟** اگر DNA پلی‌مراز I در یک سلول فرضی غیرعملکردی باشد، ساخت رشتهٔ رهبر چگونه تغییر می‌کند؟ در بالای شکل ۱۷-۱۶، محلی را که DNA پلی‌مراز I به‌صورت طبیعی روی رشتهٔ رهبر عمل می‌کند نشان دهید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۱۶ یک کروموزوم شامل یک مولکول DNA است که توسط پروتئین‌ها بسته‌بندی شده است

جزء اصلی ژنوم در بیشتر باکتری‌ها، یک مولکول DNAی حلقوی دورشته‌ای است که با مقدار کمی پروتئین در ارتباط می‌باشد. با این که ما این ساختار را کروموزوم باکتریایی می‌نامیم، اما آن با کروموزوم یوکاریوتی که از مولکول DNAی خطی همراه با مقدار زیادی پروتئین تشکیل شده است، بسیار متفاوت می‌باشد. در *E. coli*، DNAی کروموزومی از حدود ۴/۶ میلیون جفت نوکلئوتید تشکیل می‌شود که حاوی حدود ۴۴۰۰ ژن می‌باشد. این مقدار ۱۰۰ برابر بیشتر از DNAای است که در یک ویروس معمولی یافت می‌شود، ولی فقط یک هزارم DNAی یک سلول سوماتیک انسانی می‌باشد. با این‌حال، این مقدار DNA برای بسته‌بندی شدن در چنان محفظهٔ کوچکی بسیار بزرگ است.

DNAی بازشدهٔ سلول *E. coli*، حدود یک میلی‌متر طول دارد، یعنی ۵۰۰ برابر بلندتر از خود سلول است. در یک باکتری، پروتئین‌های خاصی باعث می‌شوند تا کروموزوم پیچ و فراپیچ[1] بخورد و به‌صورت فشرده بسته‌بندی شود، به‌طوری‌که فقط قسمتی از سلول را اشغال کند. برخلاف هستهٔ یک سلول یوکاریوت، این ناحیهٔ متراکم از DNA در باکتری که **نوکلئوئید**[2] نامیده می‌شود، توسط غشا احاطه نمی‌شود (شکل ۵-۶ را ببینید).

هر کروموزوم یوکاریوتی دارای یک DNAی دورشته‌ای خطی است که در انسان‌ها به‌طور میانگین حدود $1/5 \times 10^8$ جفت نوکلئوتید دارد. این مقدار DNA در مقایسه با طول فشردهٔ یک کروموزوم، بسیار زیاد به‌نظر می‌رسد. چنین DNAای اگر به‌طور کامل کشیده شود، حدود ۴ سانتی‌متر طول خواهد داشت که هزاران برابر بیشتر از قطر هستهٔ سلول است و این هنوز بدون در نظر گرفتن DNAی مربوط به ۴۵ کروموزوم دیگر انسانی است!

در سلول، DNAی یوکاریوتی به دقت با مقدار زیادی پروتئین ترکیب می‌شود. این کمپلکس DNA و پروتئین که با هم **کروماتین** نامیده می‌شوند، با یک سیستم بسته‌بندی چندمرحله‌ای و دقیق، درون هسته جای می‌گیرد. سطوح پی‌درپی بسته‌بندی DNA در یک کروموزوم، در **شکل ۲۲-۱۶** نشان داده شده است. این شکل را قبل از خواندن قسمت‌های بعدی به دقت مطالعه کنید.

در طول چرخهٔ سلولی، کروماتین دچار تغییرات زیادی در درجهٔ فشردگی‌اش می‌شود (شکل ۷-۱۲ را ببینید). در سلول‌های اینترفازی که برای بررسی با میکروسکوپ نوری رنگ‌آمیزی شده‌اند، کروماتین به‌صورت یک تودهٔ منتشر در داخل هسته به نظر می‌رسد که نشان‌دهندهٔ این است که به مقدار زیادی باز شده است. وقتی‌که یک سلول برای میتوز آماده می‌شود، کروماتین آن می‌پیچد و تا می‌خورد (فشرده می‌شود) و در نهایت تعدادی کروموزوم متافازی قطور و کوتاه که با میکروسکوپ نوری از هم قابل تشخیص‌اند، تشکیل می‌دهد.

با اینکه کروماتین اینترفازی فشردگی خیلی کمتری نسبت به کروماتینِ کروموزوم‌های میتوزی دارد، هنوز سطوح مشابهی از بسته‌بندی با درجهٔ بالا را داراست. به نظر می‌رسد مقداری از کروماتینِ کروموزوم به‌صورت فیبرهای ۱۰ نانومتری وجود دارد، ولی بیشتر آن به‌صورت فیبرهای ۳۰ نانومتری می‌باشد که در برخی نواحی بیشتر تاخورده و به‌صورت دُمین‌های[3] حلقوی در آمده است. اگرچه یک کروموزوم اینترفازی فاقد داربست مشخصی است، اما به‌نظر می‌رسد که دُمین‌های حلقوی به لامینای هسته‌ای در داخل پوشش هسته‌ای، و شاید به فیبرهای ماتریکس هسته‌ای، متصل باشند. این اتصالات ممکن است محل‌هایی از کروماتین را که در آن ژن‌ها فعال‌اند، سازمان‌بندی کنند. کروماتین مربوط به هر کروموزوم یک منطقهٔ محدود خاص را در هستهٔ اینترفازی اشغال می‌کند و کروماتین کروموزوم‌های مختلف با هم مخلوط نمی‌شوند (**شکل ۲۳-۱۶**).

1- Supercoil
2- Nucleoid
3- Domains

حتی در طول اینترفاز هم، سانترومرها و تلومرهای کروموزوم‌ها، و بعضی مناطق خاص دیگر کروموزومی در بعضی سلول‌ها، همچنان در وضعیت کاملاً فشرده‌ای شبیه به کروموزوم متافازی باقی می‌مانند. این نوع از کروماتین اینترفازی که در میکروسکوپ نوری به‌صورت دسته‌های نامنظم دیده می‌شود **هتروکروماتین**[1] نامیده می‌شود تا از کروماتین با فشردگی کمتر و پراکنده‌تر به‌نام **یوکروماتین**[2] (کروماتین واقعی) تشخیص داده شود. هتروکروماتین به علت فشردگی بالایی که دارد برای ماشین سلولیِ مسئول بیان اطلاعات موجود در DNA، غیرقابل دسترس است. برعکس، یوکروماتین به علت فشردگی کمترش، برای این ماشین در دسترس است و ژنی موجود در آن می‌توانند بیان شوند. کروموزوم یک ساختار پویاست و در طول فرایندهای مختلف سلولی مانند میتوز، میوز و فعالیت‌های ژن‌ها به شکل مورد نظر تغییر پیدا می‌کند. همان‌طور که در فصل ۱۸ خواهید دید، تغییرات شیمیایی هیستون‌ها، بر روی تراکم کروماتین تأثیر می‌گذارند، این تغییرات همچنین اثرات متعددی بر روی فعالیت ژن‌ها دارند.

در این فصل، شما آموختید که چگونه مولکول‌های DNA درون کروموزوم‌ها سازمان‌بندی می‌شوند و اینکه همانندسازی DNA، چگونه ژن‌های والدین را به فرزندان منتقل می‌کند. به هرحال، این کافی نیست که ژن‌ها کپی و انتقال داده شوند؛ بلکه اطلاعاتی که ژن‌ها حمل می‌کنند باید توسط سلول مورد استفاده قرار گیرد. به عبارت دیگر، ژن‌ها باید «بیان» شوند. در فصل بعدی خواهیم دید که چگونه اطلاعات رمزشده در DNA توسط سلول ترجمه می‌شوند.

پرسش‌های مبحث ۳-۱۶

۱. ساختار نوکلئوزوم، واحد پایهٔ بسته‌بندی DNA در سلول‌های یوکاریوتی را توضیح دهید.

۲. کدام دو ویژگی، هتروکروماتین را از یوکروماتین افتراق می‌دهند؟

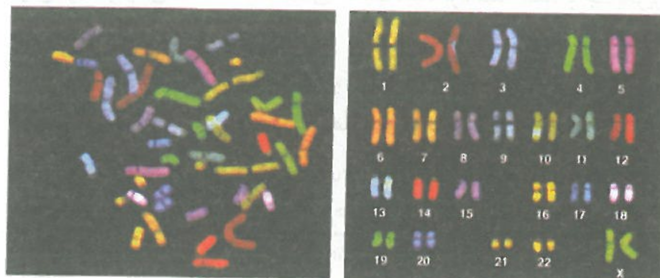
۳. **ارتباط دهید.** به‌نظر می‌رسد کروموزوم‌های اینترفازی به لامینای هسته‌ای و احتمالاً به ماتریکس هسته‌ای متصل هستند. این دو ساختار را شرح دهید. شکل ۹-۶ را مطالعه کنید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

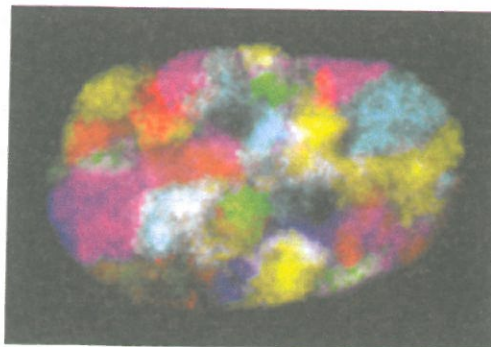
◀ شکل ۲۳-۱۶

رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها

پژوهشگران با استفاده از تکنیک‌هایی که در فصل ۲۰ خواهید آموخت، کروموزوم‌های انسانی را با برچسب‌های مولکولی اختصاصی تیمار می‌کنند، به‌طوری که هر جفت کروموزوم را بتوان با یک رنگ متفاوت مشاهده کرد. شکل پایین سمت چپ، کروموزوم‌هایی را نشان می‌دهد که با این روش تیمار شده‌اند؛ در سمت راست، این کروموزوم‌ها به صورت یک کاریوتیپ، مرتب شده‌اند.



چرا این موضوع اهمیت دارد؟ *توانایی تمایز دیداری بین کروموزوم‌ها باعث شد تا پژوهشگران متوجه چگونگی آرایش کروموزوم‌ها در هستهٔ اینترفازی شوند. همان‌طور که در هستهٔ اینترفازی پایین ملاحظه می‌کنید، ظاهراً هر کروموزوم در طی اینترفاز، قلمرو خاصی را اشغال کرده است. در حالت کلی، دو کروموزوم همتای یک جفت کروموزومی همراه هم قرار ندارند.*



مطالعهٔ بیشتر:

M.R. Speicher and N.P. Carter, The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology, Nature Reviews Genetics 6: 782-792 (2005); J.L. Marx, New methods for expanding the chromosomal. paint kit, Science 273:430 (1996).

ارتباط دهید. *اگر شما یک سلول انسان را در متافاز میوز I متوقف کرده باشید و این روش را به کار برده باشید، چه چیزی را مشاهده خواهید کرد؟ این موضوع با آنچه شما در متافاز میتوز می‌بینید، چه تفاوتی دارد؟ شکل ۸-۱۳ و شکل ۷-۱۲ را مطالعه کنید.*

1- Heterochromatin
2- Euchromatin

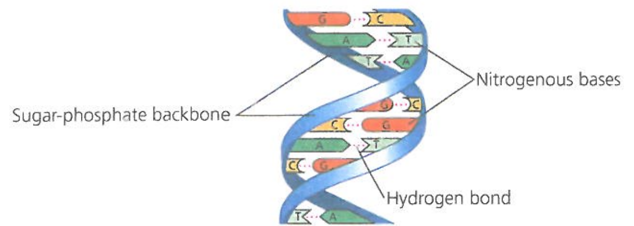
16 مرور فصل

خلاصه مفاهیم کلیدی

۱-۱۶ DNA مادهٔ ژنتیک است

○ آزمایش‌ها بر روی باکتری‌ها و **فاژها**، اولین مدرک محکم را که DNA مادهٔ ژنتیک است، فراهم کرد.

○ واتسون و کریک استنباط کردند که DNA یک **مارپیچ دوتایی** است. دو زنجیرهٔ قند- فسفات **ناهمسو** در سطح خارجی مولکول پیچ می‌خورند؛ بازهای نیتروژنی در داخل مولکول قرار گرفته‌اند و در آن محل جفت‌بازهای اختصاصی پیوندهای هیدروژنی تشکیل می‌دهند: A با T، و C با G.

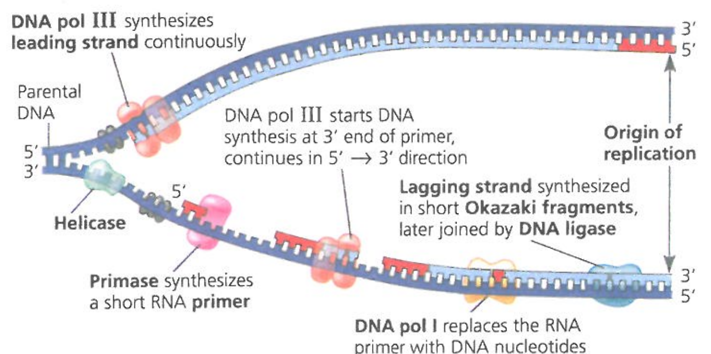


؟ وقتی می‌گوییم دو رشتهٔ DNA در مارپیچ مضاعف ناهمسو هستند، منظورمان چیست؟ اگر این دو رشته هم‌سو بودند، انتهای این مارپیچ مضاعف شبیه به چه چیزی بود؟

۲-۱۶ پروتئین‌های متعددی در همانندسازی و ترمیم DNA نقش دارند

○ **همانندسازی DNA نیمه‌حفظ‌شده** است: رشته‌های مولکول والدینی از یکدیگر جدا می‌شوند، سپس هر رشته به‌عنوان یک الگو برای ساختن یک رشتهٔ جدید براساس قوانین جفت‌شدن بازها به‌کار می‌رود.

○ همانندسازی DNA در یک **چنگال همانندسازی** در اینجا خلاصه شده است:



○ *DNA* پلی‌مرازها، DNAی نوساز را تصحیح می‌نمایند. در **ترمیم ناهمجور**، آنزیم‌ها خطا در جفت‌شدن بازها را تصحیح می‌کنند. در **ترمیم برش نوکلئوتیدی**، قطعات DNAی آسیب‌دیده برداشته شده و جایگزین می‌شوند.

○ انتهای DNAی کروموزوم‌های یوکاریوتی با هر چرخهٔ همانندسازی کوتاه‌تر می‌شوند. در انتهای مولکول‌های خطی DNA، توالی‌های تکراری به‌نام **تلومر** وجود دارد که تخریب ژن‌ها را به تعویق می‌اندازد. **تلومراز** در سلول‌های زایشی، طویل کردن تلومرها را کاتالیز می‌کند.

؟ همانندسازی DNA در رشته‌های رهبر و پیرو را با هم مقایسه کنید. شباهت‌ها و تفاوت‌های آن دو را ذکر کنید.

۳-۱۶ یک کروموزوم شامل یک مولکول DNA است که توسط پروتئین‌ها بسته‌بندی شده است

○ کروموزوم باکتریایی معمولاً یک مولکول DNAی حلقوی است که در ارتباط با یک‌سری پروتئین می‌باشد. **کروماتین** یوکاریوتی که یک کروموزوم را می‌سازد از DNA و **هیستون** تشکیل شده است. هیستون‌ها به یکدیگر و به DNA متصل می‌شوند تا **نوکلئوزوم** را بسازند که پایه‌ای‌ترین واحد بسته‌بندی DNA می‌باشد. دم‌های هیستونی از هستهٔ هر نوکلئوزوم دانه‌تسبیحی به بیرون گسترش می‌یابند. تاخوردگی‌های بیشتر سرانجام کروماتین فشردهٔ کروموزوم متافازی را ایجاد می‌کنند. در سلول‌های اینترفازی، بیشتر کروماتین فشردگی کمتری دارد (**یوکروماتین**)، ولی بعضی قسمت‌های آن به شدت فشرده باقی می‌ماند (**هتروکروماتین**). تغییرات هیستونی ممکن است درجهٔ فشردگی کروماتین را تحت تأثیر قرار دهند.

؟ سطوح بسته‌بندی کروماتین را که انتظار دارید در یک هستهٔ اینترفازی مشاهده کنید. شرح دهید.

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چند گزینه‌ای ۱ تا ۸ پاسخ دهید.*

۹- **ارتباط دهید** اگرچه پروتئین‌هایی که موجب پیچش کروموزوم در *E. coli* می‌شوند هیستون نیستند، انتظار دارید این پروتئین‌ها چه شباهتی با هیستون‌ها داشته باشند که آنها را قادر می‌سازد تا به DNA متصل شوند (شکل ۱۶-۵ را ببینید)؟

۱۰- جدول پایین، ترکیب بازی DNA را در چندین گونه نشان می‌دهد. توضیح دهید این اطلاعات چگونه قوانین چارگاف را شرح می‌دهند.

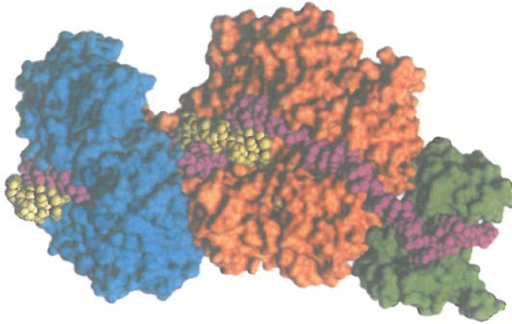
Source	Adenine	Guanine	Cytosine	Thymine
E. coli	24.7%	26.0%	25.7%	23.6%
Wheat	28.1	21.8	22.7	27.4
Sea urchin	32.8	17.7	17.3	32.1
Salmon	29.7	20.8	20.4	29.1
Human	30.4	19.6	19.9	30.1
Ox	29.0	21.2	21.2	28.7

۱۱- ارتباط تکاملی

برخی باکتری‌ها این توانایی را دارند که به فشار محیطی از طریق افزایش میزان جهش‌هایی که در طی تقسیم سلولی رخ می‌دهد، پاسخ دهند. چگونه این عمل می‌تواند انجام شود؟ مزیت تکاملی این توانایی چه می‌باشد؟

۱۲- تحقیق علمی

رسم کنید. ساخت مدل می‌تواند قسمت مهمی از مراحل علمی باشد. شکل نشان داده شده در زیر یک مدل کامپیوتری است که کمپلکس همانندسازی DNA را نشان می‌دهد. DNAی والدی و DNAی تازه ساخته‌شده با رنگ‌های متفاوتی نشان داده شده‌اند. همچنین سه پروتئین دیگر: DNA پلی‌مراز III، حلقهٔ لغزنده و پروتئین متصل‌شونده به تک‌رشته مشخص شده‌اند. از مطالبی که در این فصل آموخته‌اید استفاده کنید و هر رشتهٔ DNA و هر پروتئین را در شکل نام‌گذاری کنید و جهت کلی همانندسازی DNA را مشخص نمایید.



۱۳- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات؛ ساختار و عملکرد ادامهٔ حیات به اطلاعات وراثتی به شکل DNA بستگی دارد، و ساختار و عملکرد در تمامی سطوح سازمان‌یابی زیستی به‌هم مرتبط هستند. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت) شرح دهید که چگونه ساختار DNA با نقش آن به عنوان اساس مولکولی توارث، ارتباط دارد.

17

از ژن تا پروتئین



شکل ۱- ۱۷ چگونه یک ژن معیوب باعث ظاهر عجیب یک گوزن زال می‌شود؟

مفاهیم کلیدی

۱- ۱۷ ژن‌ها از طریق رونویسی و ترجمه، پروتئین‌ها را تعیین می‌کنند

۲- ۱۷ نگاهی دقیق‌تر به رونویسی: فرایند ساخت RNA از روی DNA

۳- ۱۷ سلول‌های یوکاریوتی، RNA را پس از رونویسی تغییر می‌دهند

٤- ۱۷ نگاهی دقیق‌تر به ترجمه: فرایند ساخت پلی‌پپتید از روی RNA

۵- ۱۷ جهش در یک یا چند نوکلئوتید می‌تواند ساختار و عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد

۶- ۱۷ با آن که بیان ژن در میان حوزه‌های مختلف حیات متفاوت است، مفهوم ژن جهانی می‌باشد

نگاه کلی

جریان اطلاعات ژنتیکی

در سال ۲۰۰۶، یک گوزن جوان زال چابک با تعداد زیادی گوزن قهوه‌ای در کوهستان‌های شرق آلمان دیده شد و هیجان زیادی را در بین مردم به‌وجود آورد (**شکل ۱- ۱۷**). یک سازمان محلی اعلام کرد که گوزن زال از بیماری ژنتیکی رنج می‌برد و باید کشته شود. برخی از مردم عقیده داشتند این گوزن باید صرفاً از جفت‌گیری با سایر گوزن‌ها بازداشته شود تا خزانهٔ ژنی جمعیت گوزن‌های سالم حفظ شود. بعضی دیگر بر این عقیده بودند که گوزن را باید به یک منطقهٔ طبیعی حفاظت‌شده منتقل کرد زیرا این گوزن در صورت باقی‌ماندن در حیات وحش برای حیوانات شکارچی قابل توجه‌تر است. حتی یک خوانندهٔ موسیقی آلمانی کنسرتی برای جمع‌آوری مخارج جابه‌جایی این گوزن برگزار کرد.

چه عاملی باعث این فنوتیپ قابل توجه برای گوزن شده که چنین بحث‌های زیادی را ایجاد کرده است؟

شما در فصل ۱۴ آموختید که ویژگی‌های ارثی توسط ژن‌ها تعیین می‌شوند و اینکه، صفت زالی به‌وسیلهٔ اللی مغلوب مربوط به یک ژن رنگیزه‌سازی ایجاد می‌شود. اطلاعات ژن‌ها به شکل توالی اختصاصی نوکلئوتیدها، در طول رشته‌های DNA (مادهٔ ژنتیک) ذخیره می‌شود. ولی چگونه این اطلاعات ویژگی‌های خاص یک موجود زنده را تعیین می‌کنند؟ به بیان دیگر، یک ژن در حقیقت چه می‌گوید؟ و پیام آن چگونه توسط سلول‌ها به یک صفت خاص مثل رنگ موی قهوه‌ای، گروه خونی نوع A، و یا در مورد گوزن زال، فقدان کامل رنگیزه، ترجمه می‌شود؟ گوزن زال یک نسخهٔ معیوب از یک پروتئین ضروری، که همان آنزیم مورد نیاز برای ساختن رنگیزه می‌باشد، را دارد و این پروتئین به این علت معیوب است که ژن رمز کنندهٔ آن حاوی اطلاعات نادرست می‌باشد.

این مثال نکتهٔ اصلی این فصل را نشان می‌دهد: DNAای که یک موجود زنده به ارث می‌برد، صفات خاصی را با دیکته کردن ساخت پروتئین‌ها و مولکول‌های RNAی سازنده‌ی پروتئین، ایجاد می‌کند. به بیان دیگر، پروتئین‌ها رابط بین ژنوتیپ و فنوتیپ هستند. **بیان ژن**، فرایندی است که توسط آن DNA سنتز پروتئین‌ها (یا در بعضی موارد، فقط RNAها) را هدایت می‌کند. بیان ژن‌هایی که پروتئین‌ها را رمز می‌کنند دو مرحله دارد: رونویسی و ترجمه. این فصل جریان یافتن اطلاعات از ژن تا پروتئین را با جزئیات شرح می‌دهد و نشان می‌دهد که چگونه جهش‌های ژنتیکی، موجودات زنده را از طریق پروتئین‌هایشان تغییر می‌دهند. بیان ژن مراحل مشابهی را در هر سه حوزهٔ حیات شامل می‌شود. فهمیدن این مراحل به ما اجازه می‌دهد تا مفهوم ژن را با جزئیات بیشتری در انتهای فصل درک کنیم.

۱-۱۷ ژن‌ها از طریق رونویسی و ترجمه، پروتئین‌ها را تعیین می‌کنند

پیش از آنکه به جزئیات نحوهٔ هدایت ساخت پروتئین‌ها به‌وسیلهٔ ژن‌ها بپردازیم، یک مرحله به عقب بازگشته و چگونگی کشف رابطهٔ بین ژن‌ها و پروتئین‌ها را بیان می‌کنیم.

شاهدی از مطالعات اختلالات متابولیسمی

در سال ۱۹۰۹، پزشکی بریتانیایی به‌نام آرچیبالد **گارود**[1]، اولین شخصی بود که پیشنهاد کرد ژن‌ها از طریق ساخت آنزیم‌هایی که کاتالیزکنندهٔ واکنش‌های شیمیایی خاصی هستند فنوتیپ‌ها را تعیین می‌کنند. گارود فرض کرد که علائم یک بیماری ارثی، به‌دلیل ناتوانی فرد در تولید یک آنزیم ویژه است. او به چنین بیماری‌هایی با عنوان نارسایی‌های مادرزادی متابولیسم اشاره نمود. گارود مثالی را از یک بیماری ارثی با نام آلکاپتونوریا[2] ارائه نمود که در آن، ادرار فرد به دلیل آنکه حاوی مادهٔ شیمیایی آلکاپتون است در مجاورت هوا تیره می‌شود. گارود چنین نتیجه‌گیری کرد که اغلب مردم آنزیم لازم برای تجزیهٔ آلکاپتون را دارند. اما، افراد مبتلا به آلکاپتونوریا، ناتوانی ارثی در تولید آنزیم تجزیه‌کنندهٔ آلکاپتون دارند.

عقیدهٔ گارود فراتر از زمان خودش بود. اما، تحقیقی که چند دههٔ بعد انجام گرفت فرضیهٔ وی را که یک ژن ساخت یک آنزیم خاص را هدایت می‌کند، تأیید کرد. همچنین بیوشیمی‌دانان دلایل بیشتری را به‌دست آوردند که نشان می‌داد سلول‌ها اغلب مولکول‌های آلی را در مسیرهای متابولیکی، تولید و تجزیه می‌کنند. در این مسیرها، هر واکنش شیمیایی در یک ترتیب مشخص با آنزیم خاصی کاتالیز می‌شود، برای مثال چنین مسیرهای متابولیکی منجر به تولید رنگدانه‌های چشم‌های مگس سرکه (دروزوفیلا[3]) می‌شود (به‌شکل ۳- ۱۵ نگاه کنید). در دهۀ ۱۹۳۰، جرج بیدل[4] و بوریس اِفروسی[5] نتیجه‌گیری کردند که در دروزوفیلا هریک از انواع جهش‌هایی که رنگ چشم را تغییر می‌دهد، از ساخت رنگدانه در یک مرحلهٔ خاص و با جلوگیری از تولید آنزیم کاتالیزکنندهٔ آن مرحله جلوگیری می‌نماید. در آن زمان، نه واکنش‌های شیمیایی و نه آنزیم‌های مسئول آن شناسایی نشده بودند.

1- Archibald Garrod
2- Alkaptonuria
3- *Drosophila*
4- George Beadle
5- Boris Ephrussi

انواع جهش‌یافته‌های غذایی در نوروسپورا: تحقیق علمی

چندین سال بعد پیشرفت بزرگی که نشان‌دهندهٔ رابطهٔ بین ژن و آنزیم بود، در حین تحقیق بیدل و ادوارد تیتوم[6] برروی کپک نان، *نوروسپورا کراسا*[7]، به‌دست آمد. آنها نوروسپورا را با اشعهٔ ایکس بمباران کرده، سپس در میان انواع زندهٔ جهش‌یافته انواعی را جستجو کردند که از لحاظ نیازمندی‌های غذایی با کپک وحشی اختلاف داشتند. نوروسپورای نوع وحشی احتیاجات غذایی متوسطی دارد. این قارچ می‌تواند در آزمایشگاه برروی آگار (محیط پشتیبان نیمه‌جامد) همراه با نمک‌های معدنی، گلوکز و ویتامین بیوتین رشد نماید. قارچ با استفاده از مسیرهای متابولیکی خود، از این محیط حداقل برای تولید همهٔ مولکول‌های مورد نیاز خود استفاده می‌کند. بیدل و تیتوم جهش‌یافته‌هایی را که نمی‌توانستند برروی محیط حداقل رشد نمایند، به‌راحتی تشخیص می‌دادند زیرا این کپک‌ها قادر به ساخت مولکول‌های ضروری از مواد حداقل موجود در محیط نبودند. به هر روی، این جهش‌یافته‌های غذایی می‌توانستند برروی یک محیط کشت کامل که شامل محیط کشت حداقل با همهٔ بیست آمینواسید موجود و چند مادهٔ غذایی دیگر بود، رشد نمایند.

بیدل و تیتوم، برای تشخیص نقص متابولیک در هر کپک جهش‌یافتهٔ غذایی، نمونه‌های درحال رشد برروی محیط کامل را گرفته و آنها را در تعدادی از لوله‌های آزمایش مختلف توزیع نمودند. هر لولهٔ آزمایش حاوی محیط حداقل به‌علاوهٔ یک مادهٔ غذایی دیگر بود. این مکمل ویژهٔ غذایی اگر موجب رشد کپک می‌شد، نقص متابولیک را نشان می‌داد. برای مثال، اگر فقط لولهٔ آزمایش غنی‌شده با آمینواسید آرژنین موجب رشد جهش‌یافته می‌شد، چنین استنباط می‌کردند که جهش‌یافته در یک مسیر بیوشیمیایی دچار نقص شده که سلول وحشی از آن برای تولید آرژنین استفاده می‌کند.

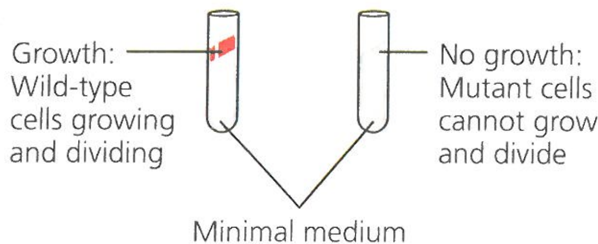
بیدل و تیتوم تصمیم گرفتند که به‌طور اختصاصی‌تری به بررسی نقایص جهش‌یافته‌ها بپردازند. آنها نشان دادند که جهش‌یافته‌های نیازمند آرژنین در سه گروه قرار می‌گیرند که هرکدام در یک ژن خاص دچار جهش شده‌اند (**شکل ۲- ۱۷**). چون هر گروه جهش‌یافته در یک ژن منفرد نقص داشت، نتایج بیدل و تیتوم مُهر تأیید محکمی بر فرضیهٔ «*یک ژن - یک آنزیم*» گذاشت، که آنها خود قبلاً آن را عنوان کرده بودند. این فرضیه بیان می‌کند که عملکرد ژن این است که دستور تولید یک آنزیم اختصاصی را صادر نماید.

6- Edward Tatum
7- *Neurosporacrassa*

شکل ۲ـ۱۷ **تحقیق**

تحقیق آیا ژن‌های خاصی، آنزیم‌های یک مسیر بیوشیمیایی را تعیین می‌کنند؟

آزمایش: ادوارد تیتوم و جرج بیدل با کار کردن بروی کپک نوروسپورا، جهش‌یافته‌هایی که در محیط رشدشان نیازمند آرژنین بودند را جداسازی نموده و نشان دادند که این جهش‌یافته‌ها به سه گروه تقسیم می‌شوند که هریک در یک ژن نقص دارند. با بررسی‌های دیگری، آنها چنین فرض کردند که مسیر متابولیک بیوسنتز آرژنین دارای دو پیش‌ساز آرنیتین و سیترولین می‌باشد. مشهورترین آزمایش آنها که در اینجا نشان داده شده، فرضیهٔ «یک ژن ـ یک آنزیم» و نیز مسیر فرضی بیوسنتز آرژنین را ارزیابی نمود. در این آزمایش، آنها سه گروه از جهش‌یافته‌هایشان را در چهار شرایط مختلف رشد دادند که در قسمت نتایج، در پایین نشان داده شده است. آنها از محیط حداقل (MM) به‌عنوان آزمایش کنترل استفاده کردند چون می‌دانستند که سلول‌های نوع وحشی می‌توانند در محیط حداقل رشد کنند، اما سلول‌های جهش‌یافته نمی‌توانند.



نتایج: سویهٔ نوع وحشی قادر به رشد در هر چهار شرایط آزمایشگاهی بود، چون فقط به محیط حداقل نیاز دارد. سه گروه از جهش‌یافته‌ها، هرکدام مجموعهٔ خاصی از نیازمندی‌های رشدی را داشتند. برای مثال، جهش‌یافتهٔ گروه II، وقتی آرنیتین اضافه می‌شد، نمی‌توانست رشد کند اما هنگامی‌که سیترولین یا آرژنین اضافه می‌شد، رشد می‌کرد.

Condition	Classes of *Neurospora crassa*			
	Wild type	Class I mutants	Class II mutants	Class III mutants
Minimal medium (MM) (control)				
MM + ornithine				
MM + citrulline				
MM + arginine (control)				
Summary of results	Can grow with or without any supplements	Can grow on ornithine, citrulline, or arginine	Can grow only on citrulline or arginine	Require arginine to grow

Gene (codes for enzyme)	Wild type	Class I mutants (mutation in gene *A*)	Class II mutants (mutation in gene *B*)	Class III mutants (mutation in gene *C*)
	Precursor	Precursor	Precursor	Precursor
Gene *A* →	Enzyme A	Enzyme A ✗	Enzyme A	Enzyme A
	Ornithine	Ornithine	Ornithine	Ornithine
Gene *B* →	Enzyme B	Enzyme B	Enzyme B ✗	Enzyme B
	Citrulline	Citrulline	Citrulline	Citrulline
Gene *C* →	Enzyme C	Enzyme C	Enzyme C	Enzyme C ✗
	Arginine	Arginine	Arginine	Arginine

نتیجه‌گیری: بیدل و تیتوم از الگوی رشد جهش‌یافته‌ها چنین نتیجه‌گیری کردند که هر کپک جهش‌یافته‌ای به این دلیل قادر به انجام یک مرحله از مسیر ساخت آرژنین نیست، که فاقد آنزیم ضروری آن مرحله است. چون هریک از جهش‌یافته‌ها در یک ژن منفرد دارای جهش بودند، آنها نتیجه‌گیری کردند که هر ژن جهش‌یافته بایستی در حالت طبیعی تولید یک آنزیم را اعمال کند. یافته‌های آنها فرضیهٔ «یک ژن ـ یک آنزیم» را تأیید نمود و مسیر ساخت آرژنین را نیز اثبات کرد. (توجه کنید که یک جهش‌یافته تنها زمانی‌که با محصول بعد از مرحلهٔ معیوب تأمین شود، می‌تواند رشد نماید.)

منبع:

A.M.Srb and N.H. Horowitz, the ornithine cycle in Neurospora and its genetic control, Journal of Biological chemistry 154: 129-139-(1944).

چه می‌شد اگر؟ فرض کنید این آزمایش نشان داده بود که جهش‌یافته‌های گروه I تنها در محیط کشت حداقل حاوی ارنیتین یا آرژنین می‌توانستند رشد کنند و جهش‌یافته‌های گروه II تنها در محیط کشت حداقل حاوی سیترولین، ارنیتین یا آرژنین رشد کنند. با توجه به مسیرهای بیوشیمیایی و نقایص موجود در جهش یافته‌های گروه I و گروه II، پژوهشگران از آن نتایج، چه برداشتی می‌کردند؟

گواه دیگر برای فرضیهٔ یک ژن یک آنزیم با آزمایش‌هایی به‌دست آمد که فقدان آنزیم‌های خاصی در جهش‌یافته‌ها را نشان می‌داد. بیدل و تیتوم در سال ۱۹۵۸ برای این کشف که ژن‌ها از طریق تنظیم کردن واکنش‌های شیمیایی خاصی عمل می‌کنند، برندهٔ جایزهٔ نوبل شدند.

محصولات بیان ژن: یک داستان ناتمام

هنگامی‌که دانشمندان نکات بیشتری در مورد پروتئین‌ها آموختند، فرضیهٔ «یک ژن ـ یک آنزیم» را بازنگری کردند. نخست اینکه، همهٔ پروتئین‌ها آنزیم نیستند. کراتین، که پروتئین ساختمانی موی حیوانات است و هورمون انسولین، دو مثال از پروتئین‌های غیرآنزیمی می‌باشند. به‌دلیل اینکه بعضی از محصولات پروتئینی ژن‌ها، آنزیم نیستند، زیست‌شناسان مولکولی اصطلاح «یک ژن ـ یک پروتئین» را مناسب‌تر دانستند. در عین حال، بسیاری از پروتئین‌ها از دو یا چندین زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند که هر پلی‌پپتید به‌وسیلهٔ ژن اختصاصی خود تعیین می‌شود. مثلاً هموگلوبین یا پروتئین ناقل اکسیژن در گلبول‌های قرمز مهره‌داران، از دو نوع پلی‌پپتید ساخته می‌شود، و بنابراین دو ژن این پروتئین را رمز می‌کند (شکل ۲۰- ۵ را ببینید). بنابراین فرضیهٔ اولیهٔ بیدل و تیتوم به فرضیهٔ ***«یک ژن ـ یک پلی‌پپتید»*** تغییر یافت. حتی این عبارت نیز کاملاً درست نیست. نخست اینکه، بسیاری از ژن‌های یوکاریوتی می‌توانند در فرایندی به‌نام پیرایش متناوب[1]، تعدادی از پلی‌پپتیدهای مرتبط به هم را رمز کنند، مطلبی که بعداً در این فصل خواهید آموخت. دوم اینکه، برخی ژن‌ها، مولکول‌های RNAیی را رمز می‌کنند که فعالیت‌های مهمی در سلول دارند، با وجود این هیچ‌گاه به پروتئین‌ها ترجمه نمی‌شوند. اکنون، برروی ژن‌هایی که پلی‌پپتیدها را رمز می‌کنند، تمرکز می‌کنیم. (توجه داشته باشید که معمولاً به این فرآورده‌های ژنی، به‌جای اینکه به‌طور دقیق‌تر پلی‌پپتید گفته شود، پروتئین گفته می‌شود ـ رویه‌ای که در این کتاب با آن مواجه خواهید بود.)

اصول اساسی رونویسی و ترجمه

ژن‌ها دستورالعمل‌های ساخت پروتئین‌های خاصی را مهیا می‌کنند. اما ژن مستقیماً پروتئینی تولید نمی‌کند. پل ارتباطی بین DNA و ساخت پروتئین، اسید نوکلئیک RNA است. در فصل ۵ آموختید که RNA از لحاظ شیمیایی شبیه DNA است، به‌جز آنکه به‌جای قند دئوکسی‌ریبوز[2] حاوی ریبوز است و در عوض تیمین دارای باز نیتروژنی یوراسیل می‌باشد (به‌شکل ۲۶- ۵ نگاه کنید). بنابراین هر نوکلئوتید در طول رشتهٔ DNA حاوی بازهای آدنین، گوانین، سیتوزین یا تیمین است و هر نوکلئوتید در طول رشتهٔ RNA حاوی بازهای آدنین، گوانین، سیتوزین یا یوراسیل می‌باشد. معمولاً یک مولکول RNA تک‌رشته‌ای است.

به‌طور معمول، جریان اطلاعات از ژن تا پروتئین با مفاهیم زبان‌شناسی توصیف می‌شود، زیرا اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها پلی‌مرهایی از توالی‌های خاص مونومری هستند که اطلاعات را مشابه توالی‌های خاصی از حروف در زبانی مثل زبان انگلیسی، انتقال می‌دهند. در DNA یا RNA، مونومرها چهار نوع نوکلئوتید هستند که در بازهای نیتروژنی‌شان با یکدیگر اختلاف دارند. ژن‌ها معمولاً دارای صدها یا هزاران نوکلئوتید هستند و هرکدام یک توالی اختصاصی از بازها را دارند. هر پلی‌پپتید در یک پروتئین نیز مونومرهایی دارد که در یک ترتیب خطی ویژه سازمان‌دهی شده‌اند (ساختار اولیهٔ پروتئین) اما مونومرهای آن، بیست نوع آمینواسید می‌باشند. بنابراین اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها حاوی اطلاعاتی هستند که به دو زبان شیمیایی مختلف نوشته شده است. انتقال اطلاعات از DNA به پروتئین، نیازمند دو مرحلهٔ اصلی رونویسی و ترجمه می‌باشد.

رونویسی، ساخت RNA از روی DNA می‌باشد. هر دو نوع نوکلئیک اسید از یک زبان مشابه استفاده می‌کنند بنابراین اطلاعات به‌راحتی از یک مولکول به دیگری رونویسی یا کپی‌برداری می‌شود. درست مانند زمانی‌که یک رشتهٔ DNA، الگوی ساخت رشتهٔ مکمل جدید را در فرایند همانندسازی مهیا می‌سازد، این رشته، الگوی لازم برای سرهم‌بندی یک توالی از نوکلئوتیدهای RNA را نیز فراهم می‌کند. این نوع مولکول RNA را **RNA پیک**[3] می‌نامند، زیرا حامل پیام ژنتیکی از DNA به ماشین سنتز پروتئین سلول است. (رونویسی یک اصطلاح کلی برای سنتز هر نوع RNA از روی الگوی DNA است. بعداً در این فصل در مورد دیگر انواع RNA که از طریق رونویسی تولید می‌شوند مطالبی را خواهید آموخت.)

ترجمه، ساخت یک پلی‌پپتید است که تحت فرمان RNA پیک انجام می‌گیرد. در این مرحله، در زبان ارتباطی یک تغییر ایجاد می‌شود: سلول توالی بازیِ مولکول RNA پیک را به توالی

1- Alternative splicing

2- Deoxyribose

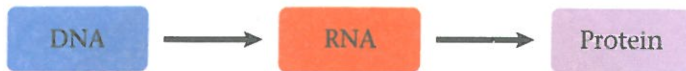
3- Messenger RNA (mRNA)

آمینواسیدیِ یک پلی‌پپتید ترجمه می‌نماید. جایگاه‌های ترجمه همان **ریبوزوم‌ها**[1] هستند، ذرات پیچیده‌ای که شرایط لازم برای اتصال منظم آمینواسیدها به زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی را فراهم می‌سازند.

رونویسی و ترجمه در تمام موجودات زنده رخ می‌دهند. از فصل یک به‌یاد دارید که سه قلمرو[2] جانداران وجود دارد: باکتری‌ها، آرکی باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها. موجودات دو قلمرو اول به‌عنوان پروکاریوت دسته‌بندی می‌شوند چون سلول‌هایشان فاقد غشای هسته (ویژگی تعیین‌کننده برای سلول‌های یوکاریوت) می‌باشد. بیشتر مطالعات مربوط به رونویسی و ترجمه روی باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها انجام شده‌اند که تمرکز اصلی ما در این فصل هستند. البته دانسته‌های ما در مورد این مراحل در آرکی باکتری‌ها عقب‌تر است. در بخش آخر این فصل، کمی در مورد بیان ژن در این دسته هم بحث خواهیم کرد.

با آنکه مکانیسم‌های پایه‌ای رونویسی و ترجمه در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها مشابه است، تفاوت مهمی در نحوهٔ جریان اطلاعات ژنتیکی درون این سلول‌ها وجود دارد. چون باکتری فاقد هسته است DNAی آن نیز از ریبوزوم‌ها و دیگر عوامل ساخت پروتئین فاصلهٔ چندانی ندارد (**شکل ۱۷-۳a**). در ادامه خواهید دید که این موضوع سبب می‌شود ترجمهٔ یک RNA پیک در باکتری، درحالی‌که هنوز رونویسی آن درحال انجام است، آغاز شود. برخلاف آن، در سلول یوکاریوتی، غشای هسته فرایندهای ترجمه و رونویسی را از نظر مکان و زمان انجام، مجزا می‌کند (**شکل ۱۷-۳b**). رونویسی در هسته روی داده و سپس RNA پیک به سیتوپلاسم، محل انجام ترجمه، منتقل می‌گردد. اما قبل از آنکه رونوشت‌های RNAی یوکاریوتی هسته را ترک نمایند، به شیوه‌های مختلف تغییراتی برروی آنها انجام می‌گیرد تا RNA پیک نهایی و عملکردی تولید شود. رونویسی از یک ژن یوکاریوتیِ رمزکنندهٔ پروتئین منجر به ساخت RNA **پیک اولیه**[3] می‌شود و پردازش RNA[4] موجب تولید RNA پیک بالغ نهایی خواهد شد. رونوشت اولیهٔ RNA از هر ژن، از جمله ژن‌های رمزکنندهٔ RNAهایی که به پروتئین ترجمه نمی‌شوند را ***رونوشت نخستین***[5] می‌نامند.

حال مطالب گذشته را خلاصه می‌کنیم. ژن‌ها ساخت پروتئین را توسط پیام‌های ژنتیکی به‌شکل RNA پیک برنامه‌ریزی می‌کنند. به‌عبارت دیگر، سلول‌ها به‌وسیلهٔ یک سلسله فرامین مولکولی، رهبری می‌گردند:



این مفهوم توسط فرانسیس کریک[6] در سال ۱۹۵۶ «اصل مرکزی»[7] نامیده شد. چگونه این مفهوم در طول زمان حفظ شده است؟ در دههٔ ۱۹۷۰ دانشمندان با شگفتی دریافتند که بعضی از مولکول‌های RNA می‌توانند به‌عنوان الگویی برای DNA عمل کنند. به‌هرحال، چنین استثنای نادری این عقیده را که اطلاعات ژنتیکی از DNA به RNA و سپس به پروتئین جریان می‌یابد را باطل نمی‌کند. در مبحث بعد، ما در این باره بحث می‌کنیم که چگونه دستورالعمل‌های اتصال آمینواسیدها به یک ترتیب خاص، در نوکلئیک اسیدها رمز می‌شوند.

رمزگان ژنتیکی[8]

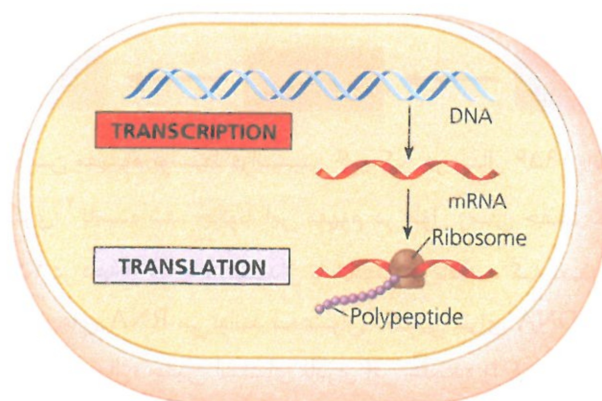
زیست‌شناسانی که فرض می‌کردند دستورالعمل‌های ساخت پروتئین درون DNA رمزگذاری شده است، با یک مسأله روبه‌رو شدند: تنها چهار باز نوکلئوتیدی وجود دارد که می‌باید بیست آمینواسید را تعیین نمایند. بنابراین رمزگان (کدهای) ژنتیکی نمی‌تواند همانند زبان پر از حروف چینی باشد که در آن هر علامت نمایان‌گر یک کلمهٔ خاص است. بنابراین چه تعداد باز نمایان‌گر یک آمینواسید خواهد بود؟

کدون‌ها: بازهای سه‌گانه

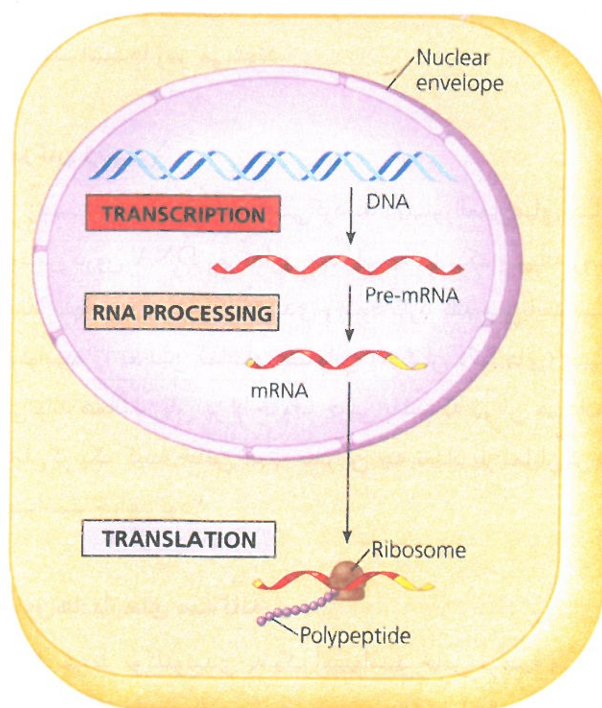
اگر هر باز نوکلئوتیدی به یک آمینواسید خاص ترجمه می‌شد، تنها چهار آمینواسید (از مجموع بیست عدد) می‌توانستند تعیین شوند. آیا یک زبان با کلمات رمز دوحرفی برای این منظور کافی نیست؟ به‌عنوان مثال اگر بازهای AG می‌توانست یک آمینواسید و بازهای GT نیز آمینواسید دیگری را مشخص سازد، از آنجا که چهار باز وجود دارد این فرمول نیز تنها شانزده آرایش ممکن را (معادل 4^2) به ما می‌دهد که هنوز برای رمزگذاری تمام بیست آمینواسید کافی نیست.

1- Ribosomes
2- Domain
3- pre-mRNA
4- RNA processing
5- Primary transcript

6- Francis Crick
7- Central dogma
8- Genetic code



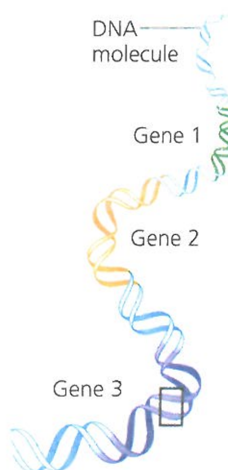
(a) سلول باکتریایی. در یک سلول باکتریایی که فاقد هسته است، mRNAی حاصل از رونویسی، بدون هیچ پردازش اضافی، بلافاصله ترجمه می‌شود.



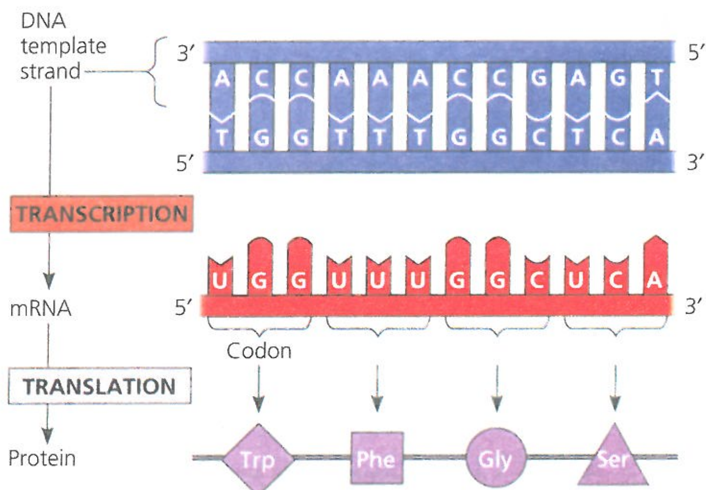
(b) سلول یوکاریوتی. هسته قسمت مجزایی برای رونویسی فراهم می‌کند. رونوشت اولیهٔ RNA، که mRNA اولیه نامیده می‌شود، قبل از اینکه هسته را به صورت mRNA ترک کند، به روش‌های متعددی پردازش می‌شود.

◄ **شکل ۳ - ۱۷ مرور: نقش رونویسی و ترجمه در جریان اطلاعات ژنتیکی.** *در سلول، اطلاعات وراثتی از DNA به RNA و سپس پروتئین جریان دارد. دو مرحلهٔ مهم از جریان اطلاعات، رونویسی و ترجمه هستند. مدل نقاشی (کوچک) قسمت (a) و (b) بعداً در این فصل همراه با چند شکل آمده است، تا به عنوان یک طرح راهنما به شما کمک کند. دقت کنید که یک شکل بخصوص با کدام قسمت این طرح کلی جور در می‌آید.*

بازهای نوکلئوتیدی سه‌تایی، کوچک‌ترین واحدهای هم‌اندازه‌ای هستند که می‌توانند همهٔ آمینواسیدها را رمزگذاری نمایند. اگر هر آرایشی از سه باز متوالی، یک آمینواسید را مشخص نماید، ۶۴ کلمهٔ رمز شده (به عبارتی، 4^3) وجود خواهد داشت که بیشتر از مقدار لازم برای تعیین تمام آمینواسیدها می‌باشد. آزمایش‌ها تأیید نمودند که جریان اطلاعات از ژن به پروتئین، برپایهٔ یک **رمز سه‌تایی** بنا نهاده شده و دستورالعمل‌های ژنتیکی برای ساخت زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی، به‌صورت یک سری کلمات سه‌نوکلئوتیدی ناهمپوشان، بر روی DNA نوشته شده است که mRNA را می‌سازند و بعداً به زنجیرهٔ آمینواسیدها ترجمه می‌شود **(شکل ۴-۱۷)**.



ژن در هنگام رونویسی، توالی بازهای مولکول RNA پیک را تعیین می‌کند. در مورد هر ژن، تنها یکی از دو رشتهٔ DNA رونویسی می‌شود. این رشته به‌دلیل آنکه توالی نوکلئوتیدهای RNA را تعیین می‌کند، **رشتهٔ الگو**[1] نامیده می‌شود. رشتهٔ DNA مورد نظر می‌تواند برای بعضی از ژن‌ها نقش رشتهٔ الگو را ایفا نماید درحالی‌که ممکن است برای ژن‌های دیگر در سایر نواحی، رشتهٔ مکمل آن، نقش الگو را ایفا کند. البته



◄ **شکل ۴ - ۱۷ رمز سه‌گانه.** *در هر ژن، یک رشتهٔ DNA به‌عنوان الگوی رونویسی عمل می‌کند. قوانین جفت شدن بازها در مورد همانندسازی DNA برای رونویسی نیز صادق است. با این تفاوت که در RNA بازیوراسیل جای تیمین را می‌گیرد. در هنگام ترجمه، RNA پیک به‌صورت یک توالی از بازهای سه‌تایی به‌نام کدون خوانده می‌شود. هر کدون مشخص‌کنندهٔ یک آمینواسید است که باید به رشتهٔ پلی‌پپتیدی درحال رشد افزوده شود. RNA پیک در جهت ′۳ ← ′۵ خوانده می‌شود. توالی mRNA را با توالی رشتهٔ DNAی غیر الگو مقایسه کنید. هر دو مورد از ′۳ ← ′۵ خوانده شوند.*

1- Template strand

توجه داشته باشید که در مورد هر ژن خاص، همیشه فقط یک رشته به‌عنوان رشتهٔ الگو استفاده می‌شود.

یک مولکول RNA پیک به جای آنکه کاملاً مشابه DNAی الگو باشد، مکمل آن است زیرا بازهای RNA براساس قوانین جفت شدن بازها برروی رشتهٔ الگو قرار می‌گیرند. رابطهٔ جفت‌بازها مشابه همانندسازی DNA هستند به‌جز آنکه یوراسیل که به‌جای تیمین در مولکول RNA جایگزین شده، با آدنین جفت می‌شود و نوکلئوتیدهای RNA پیک به‌جای دئوکسی‌ریبوز حاوی ریبوز هستند. همچون یک رشتهٔ جدید DNA، مولکول RNA نیز به‌صورت ناهمسو[1] از روی رشتهٔ DNAی الگو ساخته می‌شود. (برای مرور معنای ناهمسو و انتهاهای ′۳ و ′۵ رشتهٔ نوکلئیک اسید به‌شکل ۷- ۱۶ توجه کنید.) به‌طور مثال، باز سه‌گانهٔ ACC برروی DNA (به‌صورت ′۵ – ACC – ′۳ نوشته می‌شود)، یک الگو را برای بازهای ′۳ – UGG – ′۵ برروی مولکول RNA پیک فراهم می‌کند. بازهای سه‌گانهٔ RNA پیک، **کدون**[2] نامیده شده و به‌طور متداول در جهت ′۳ ← ′۵ نوشته می‌شوند. در مثال اخیر، UGG، کدونی برای آمینواسید تریپتوفان (به اختصار Trp) است. همچنین واژهٔ کدون گاه برای بازهای سه‌گانهٔ DNA برروی رشتهٔ غیرالگو نیز استفاده می‌شود. این کدون‌ها مکمل رشتهٔ الگو و همسان با توالی RNA پیک هستند، به‌جز آنکه به‌جای یوراسیل، تیمین دارند. (به‌همین دلیل رشتهٔ DNA غیرالگو را گاهی «رشتهٔ رمزگذار»[3] نیز می‌نامند.)

هنگام ترجمه، توالی کدون‌های مولکول RNA پیک رمزگشایی شده و به توالی آمینواسیدهای سازندهٔ پلی‌پپتید ترجمه می‌شود. کدون‌ها به‌وسیله ماشین ترجمه در جهت ′۳ ← ′۵ برروی RNA پیک خوانده می‌شوند. هر کدون تعیین می‌کند که کدام‌یک از بیست آمینواسید در موقعیت مربوطه به پلی‌پپتید اضافه خواهد شد. چون کدون‌ها، بازهای سه‌تایی هستند، تعداد نوکلئوتیدهای تشکیل‌دهندهٔ یک پیام ژنتیکی می‌بایستی سه برابر تعداد آمینواسیدهای سازندهٔ محصول پروتئینی باشد. به‌عنوان مثال، سیصد نوکلئوتید برروی رشتهٔ RNA پیک برای رمزگذاری یک پلی‌پپتید به طول صد آمینواسید لازم است.

رمزگشایی کُد ژنتیکی

زیست‌شناسان مولکولی، رمزهای حیات را در اوایل دههٔ هفتاد رمزگشایی نمودند، یعنی هنگامی که مجموعه‌ای از آزمایش‌های پیچیده، ترجمهٔ هریک از کدون‌های RNA را آشکار ساخت. اولین کدون در سال ۱۹۶۱ توسط مارشال نیرنبرگ[4] و همکارانش در انستیتو ملی بهداشت کشف گردید. نیرنبرگ یک RNA پیک مصنوعی را با اتصال نوکلئوتیدهای RNAای یکسان که حاوی باز یوراسیل بودند تولید نمود. مهم نبود که در کجا پیام RNA آغاز یا خاتمه یابد، زیرا RNA تنها حاوی توالی تکراری از یک کدون یعنی UUU بود. نیرنبرگ این توالی «پلی‌یوراسیل» را به مخلوط لولهٔ آزمایش حاوی آمینواسیدها، ریبوزوم و دیگر عوامل لازم برای ساخت پروتئین، اضافه نمود. سیستم مصنوعی وی، پلی‌یوراسیل را به یک پلی‌پپتید حاوی آمینواسید فنیل‌آلانین که به‌صورت یک رشتهٔ پلی فنیل‌آلانین بلند به‌هم وصل شده بودند، ترجمه کرد. بنابراین نیرنبرگ نشان داد که کدون UUU برروی RNA پیک، آمینواسید فنیل‌آلانین را تعیین می‌کند. به زودی، آمینواسیدهای تعیین‌شده به‌وسیلهٔ کدون‌های AAA، GGG و CCC، شناسایی شدند.

گرچه تکنیک‌های پیشرفته‌تری برای رمزگشایی بازهای سه‌تایی مخلوط، همانند AUA و CGA نیاز بود، اما تا اواسط دههٔ هفتاد همهٔ ۶۴ کدون موجود کشف گردیدند. همان‌گونه که **شکل ۵- ۱۷** نشان می‌دهد، از ۶۴ رمز سه‌گانه، ۶۱ عدد مخصوص آمینواسیدها است. سه کدونی که آمینو اسیدها به آنها نسبت داده نشده، علائم توقف یا کدون‌های پایان هستند که پایان ترجمه را نشان می‌دهند. توجه داشته باشید که کدون AUG دو کاربرد دارد: این کدون هم آمینواسید متیونین را مشخص می‌کند و هم به‌عنوان علامت شروع یا کدون آغازین عمل می‌کند. پیام ژنتیکی با کدون AUG برروی RNA پیک آغاز می‌شود که این کدون علامتی است که به ماشین ساخت پروتئین، محل شروع ترجمهٔ RNA پیک را نشان می‌دهد. (به‌دلیل آنکه AUG نمایان‌گر متیونین است، زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی وقتی‌که ساخته می‌شود با متیونین آغاز خواهد شد. البته ممکن است این آمینواسید آغازگر در مراحل بعد به‌وسیلهٔ یک آنزیم از زنجیره برداشته شود.)

با توجه به شکل ۵- ۱۷ خواهید فهمید که در رمزگان ژنتیکی، وجود چندین کدون هم‌معنی (**فراوانی**)[5] و نه کدون‌هایی با چندین معنی، بارز است. برای مثال، گرچه کدون‌های GAA و GAG هر دو مشخص‌کنندهٔ گلوتامیک اسید هستند (هم‌معنی بودن)، هیچ‌یک از آنها بیان‌گر آمینواسید دیگری نیستند (عدم وجود کدون چندمعنی). وجود کدون‌های هم‌معنی در رمزگان ژنتیکی، امری تصادفی نیست. در اکثر موارد، کدون‌های هم‌معنیِ یک آمینواسید ویژه، تنها در باز سوم از توالی سه‌گانه تفاوت دارند. در ادامهٔ فصل به فواید این امر اشاره خواهیم کرد.

1- Antiparallel
2- Codon
3- Coding strand
4- Marshall Nirenberg
5- Redundancy

Second mRNA base

First mRNA base (5′ end of codon)	U	C	A	G	Third mRNA base (3′ end of codon)
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
U	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
U	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
U	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
C	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
C	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
C	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
A	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
A	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
A	AUG Met or start	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
G	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
G	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
G	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

◀ شکل ۵- ۱۷ **واژه‌نامهٔ رمزگان ژنتیکی.** *سه باز هر کدون RNA پیک در اینجا به‌صورت اولین، دومین و سومین باز، نشان داده شده است و برروی RNA پیک در جهت ′۳ → ′۵ خوانده می‌شوند. کدون AUG نه‌تنها بیانگر آمینواسید متیونین است بلکه به‌عنوان علامت آغازین برای ریبوزوم نیز عمل نموده تا ترجمهٔ RNA پیک از آن نقطه شروع شود. از ۶۴ کدون موجود، سه کدون نقش علامت پایان را داشته و انتهای پیام ژنتیکی را نشان می‌دهند.*

توانایی ما در درک و استخراج پیام معنادار از یک زبان نوشتاری، بستگی به خواندن علائم در یک نظم و دسته‌بندی صحیح یعنی **چهارچوب خواندن**[1] صحیح دارد. به این عبارت توجه کنید: "The red dog ate the bug" حالا کلمات را با شروع نادرست از یک نقطهٔ اشتباه، دوباره دسته‌بندی کنید. نتیجهٔ آن احتمالاً نامفهوم خواهد بود، مثل این دسته‌بندی "her edd oga tet heb ug". چهارچوب خواندن در زبان مولکولی سلول‌ها نیز اهمیت دارد. زنجیرهٔ کوتاه پلی‌پپتیدی که در شکل ۴- ۱۷ به‌عنوان مثال نشان داده شده است، تنها درصورتی به‌درستی ساخته خواهد شد که نوکلئوتیدهای RNA پیک از سمت چپ به راست (′۳ → ′۵) در دسته‌هایی سه‌تایی و به‌شکل <u>UGG</u> <u>UUU</u> <u>GGC</u> <u>UCA</u> خوانده شوند. گرچه پیام ژنتیکی بدون هیچ فاصله‌ای بین کدون‌ها نوشته شده است، دستگاه ساخت پروتئینِ سلولی، پیام را به‌صورت یک مجموعه از کلمات سه‌حرفی ناهمپوشان می‌خواند. این پیام به‌صورت یک مجموعه از کلمات همپوشان <u>UGGUUU</u> و مانند آن که تبدیل به یک پیام متفاوت می‌شود خوانده نمی‌شود.

1- Reading frame

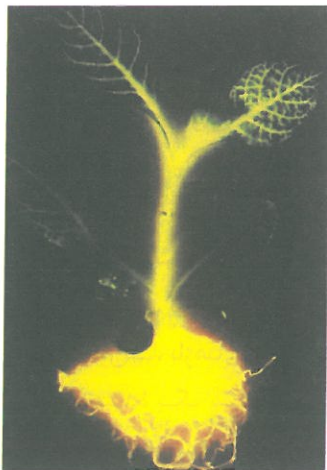
تکامل رمزگان ژنتیکی

رمزگان ژنتیکی تقریباً عمومیت داشته و در بین جانداران، از ساده‌ترین باکتری‌ها تا پیچیده‌ترین جانوران، مشترک می‌باشد. به‌عنوان نمونه، کدون CCG در تمام موجوداتی که رمزگان ژنتیکی آنها ارزیابی شده است به آمینواسید پرولین ترجمه می‌شود. در آزمون‌های آزمایشگاهی، ژن‌ها درصورتی که از یک گونه به گونهٔ دیگر انتقال داده شوند، قادر هستند رونویسی شده و ترجمه گردند (**شکل ۶- ۱۷**). باکتری می‌تواند با ورود ژن‌های انسانی، به‌گونه‌ای برنامه‌ریزی شود که پروتئین خاص انسانی را برای مقاصد پزشکی تولید نماید. چنین کاربردهایی، پیشرفت‌های شگرف بسیاری را در زیست‌فن‌آوری ایجاد نموده است (فصل ۲۰ را نگاه کنید).

استثناهایی نیز در عمومی بودن رمزگان ژنتیکی وجود دارد که شامل سیستم‌های ترجمه‌ای هستند که در آن تعداد معدودی از کدون‌ها با کدون‌های متداول اختلاف دارند. چنین تغییرات محدودی در رمزگان ژنتیکیِ برخی یوکاریوت‌های تک‌سلولی، و ژن‌های اندامک‌های بعضی گونه‌ها یافت می‌شود. بعضی از پروکاریوت‌ها قادر هستند کدون‌های خاتمه را به یک یا دو آمینواسیدی که در بیشتر جانداران یافت نمی‌شود ترجمه نمایند.



(b) خوکی که یک ژن ستارهٔ دریایی را بیان می‌کند. پژوهشگران ژن یک پروتئین فلوئوسنت را وارد تخمک‌های بارورشدهٔ خوکی کردند. یکی از این تخم‌ها به این خوک فلوئوسنت تکوین یافت.



(a) گیاه تنباکویی که یک ژن کرم شب‌تاب را بیان می‌کند. این نور زرد در اثر واکنش شیمیایی به‌وجود می‌آید که توسط فرآوردهٔ پروتئینیِ ژن کرم شب‌تاب، کاتالیز می‌شود.

◀ شکل ۶- ۱۷ **بیان ژن‌ها از گونه‌ای متفاوت.** *به‌دلیل مشترک بودن رمزگان ژنتیکی در بین اشکال مختلف حیات، این امکان وجود دارد که گونه‌ای را با انتقال DNAی گونهٔ دیگری به آن، قادر به تولید پروتئین‌های اختصاصی آن گونه کرد.*

با وجود این استثناها، اهمیت تکاملیِ رمزگانِ تقریباً عمومی، آشکار است. وجود یک زبان ژنتیکی مشترک در همهٔ موجودات زنده باید در مراحل بسیار اولیهٔ تاریخچهٔ حیات عمل می‌کرده است ـ آن‌قدر زود که در اجداد مشترک همهٔ جانداران امروزی وجود داشته باشد. یک واژه‌نامهٔ ژنتیک مشترک، یادآور نوعی رابطهٔ خویشاوندی است که تمام حیات موجود در کرهٔ زمین را به هم مرتبط می‌نماید.

پرسش‌های مبحث ۱–۱۷

۱. **ارتباط دهید** در یک مقالهٔ پژوهشی در مورد آلکاپتونوریا که در سال ۱۹۰۲ منتشر شد، گارود پیشنهاد کرد که انسان‌ها برای یک آنزیم بخصوص دو «صفت» (آلل) را به ارث می‌برند و در مورد فرزندی که این اختلال را دارد، هر دو والد بایستی یک الل معیوب را به اشتراک گذاشته باشند. در حال حاضر، این اختلال غالب نامیده می‌شود یا مغلوب؟ مفهوم ۴-۱۴ را ببینید.

۲. انتظار دارید که از یک RNA پیک پلی-G به‌طول ۳۰ نوکلئوتید چه محصول پروتئینی حاصل گردد؟

۳. **رسم کنید** رشتهٔ الگوی یک ژن حاوی توالی $3'$ - TTCAGTCGT - $5'$ می‌باشد. توالی غیرالگو و توالی RNA پیک را با مشخص کردن انتهای $5'$ و $3'$ هریک رسم کنید. دو توالی را با یکدیگر مقایسه کنید.

۴. **چه می‌شد اگر؟** تصور کنید که توالی غیرالگوی سؤال ۳ به جای توالی الگوی آن، رونویسی می‌شد. توالی RNA پیک را رسم کنید و با استفاده از شکل ۵-۱۷ آن را ترجمه نمایید (حتماً به انتهای $3'$ و $5'$ توجه کنید). پیش‌بینی کنید پروتئین حاصل از ترجمهٔ رشتهٔ غیرالگو، اگر اصلاً عملکردی داشته باشد، چقدر خوب عمل می‌کند؟

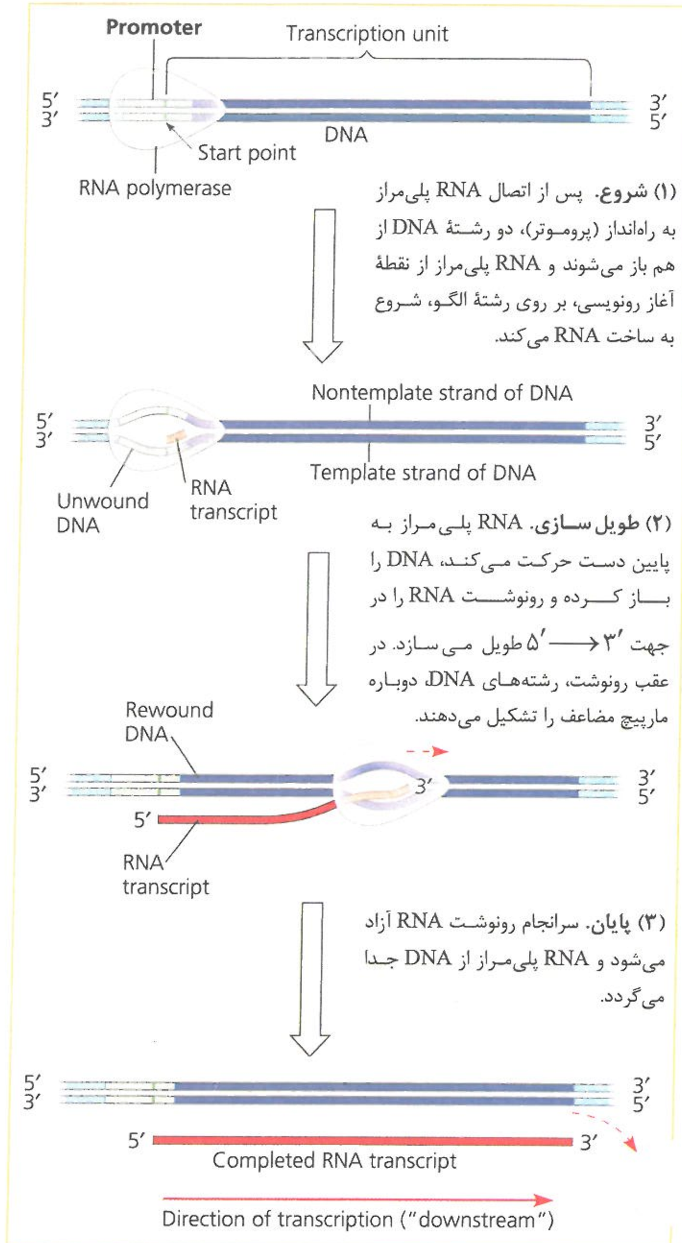
برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۲–۱۷ نگاهی دقیق‌تر به رونویسی: فرایند ساخت RNA از روی DNA

اکنون که ما منطق زبان‌شناختی و اهمیت تکاملی رمزگان ژنتیکی را بیان کردیم، آماده می‌شویم تا رونویسی، اولین قدم در بیان ژن، را به‌طور مفصل بررسی کنیم.

عوامل مولکولی رونویسی

RNAی پیک، که ناقل اطلاعات از DNA به ماشین تولید پروتئین سلولی است، از روی رشتهٔ الگوی ژن رونویسی می‌شود. یک آنزیم به نام **RNA پلی‌مراز**[1] دو رشتهٔ DNA را از همدیگر باز کرده و نوکلئوتیدهای RNA را هنگامی که با الگوی DNA جفت‌باز تشکیل می‌دهند، به هم متصل می‌کند (**شکل ۷-۱۷**). همچون



شکل ۷-۱۷ مراحل رونویسی: آغاز، طویل شدن و پایان. *این تصویر کلی از رونویسی در مورد یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها صادق است اما جزئیات پایان در این دو سلول همان‌گونه که در متن شرح داده شده، تفاوت دارد. همچنین در یک باکتری، رونوشت RNA بلافاصله به‌عنوان RNA پیک مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما در یوکاریوت‌ها ابتدا بایستی تحت فرایند پردازش قرار گیرد.*

استفاده از رشتهٔ الگو را در رونویسی و همانندسازی با یکدیگر مقایسه کنید. شکل ۱۷-۱۶ را ببینید.

1- RNA Polymerase

DNA پلی‌مراز که عملکرد همانندسازی DNA را انجام می‌دهد، آنزیم‌های RNA پلی‌مراز نیز می‌توانند یک پلی‌نوکلئوتید را تنها در جهت $3' \leftarrow 5'$ سرهم‌بندی کنند. اما برخلاف DNA پلی‌مراز، RNA پلی‌مراز قادر است ساخت یک رشته را بدون نیاز به پرایمر آغاز کند.

توالی‌های خاصی از نوکلئوتیدها برروی DNA، محل آغاز و پایان رونویسی را نشان می‌دهند. آن بخشی از توالی DNA که RNA پلی‌مراز به آن متصل شده و رونویسی را آغاز می‌کند **راه‌انداز**[1] نامیده می‌شود. در پروکاریوت‌ها، توالی که پایان رونویسی را علامت می‌دهد، **خاتمه‌دهنده**[2] نامیده می‌شود. (فرایند پایان در یوکاریوت‌ها با پروکاریوت‌ها متفاوت است که در ادامه شرح خواهیم داد). زیست‌شناسان مولکولی جهت انجام رونویسی را، «پایین‌دست» یا «فرودست[3]» و جهت دیگر را، «بالادست» یا «فرادست[4]» نام‌گذاری می‌کنند. این اصطلاحات همچنین برای بیان موقعیت توالی‌های نوکلئوتیدی درون RNA یا DNA نیز استفاده می‌شوند، بنابراین توالی راه‌انداز در DNA، فرادست خاتمه‌دهنده است. قطعه‌ای از DNA که به یک مولکول RNA رونویسی می‌شود را یک **واحد رونویسی**[5] می‌نامند.

باکتری‌ها یک نوع RNA پلی‌مراز دارند که علاوه بر RNA پیک، دیگر انواع RNA، مانند RNAی ریبوزومی را نیز رونویسی می‌کند. برخلاف آن، یوکاریوت‌ها در هستهٔ خود سه نوع RNA پلی‌مراز دارند که به‌صورت اعداد III، II، I شماره‌گذاری شده‌اند. پلی‌مرازی که برای ساخت RNA پیک استفاده می‌شود RNA پلی‌مراز II نام دارد. دو RNA پلی‌مراز دیگر، انواعی از مولکول‌های RNA را رونویسی می‌کنند که ترجمه نمی‌شوند. در مبحث رونویسی که در ادامه آمده است، ابتدا ویژگی‌های مشترک ساخت RNA پیک در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها و سپس بعضی از تفاوت‌های کلیدی آنها شرح داده شده است.

ساخت یک رونوشت RNA

همان‌گونه‌که در شکل ۷- ۱۷ نشان داده شده و در ادامه شرح خواهیم داد، سه مرحلهٔ رونویسی شامل آغاز، طویل شدن و خاتمهٔ رشتهٔ RNA می‌باشد. شکل ۷- ۱۷ را مطالعه کنید تا با مراحل و اصطلاحات مورد استفاده در شرح این فرایند آشنا شوید.

1- Promoter
2- Terminator
3- Downstream
4- Upstream
5- Transcription unit

اتصال RNA پلی‌مراز و آغاز رونویسی

راه‌انداز یک ژن شامل یک توالی است که **نقطهٔ آغاز رونویسی** (نوکلئوتیدی که ساخت RNA دقیقاً از آنجا شروع می‌شود) درون آن قرار داشته و معمولاً تا ده‌ها جفت نوکلئوتید فرادست (قبل از) نقطهٔ آغاز امتداد می‌یابد. راه‌انداز علاوه بر عمل کردن به‌عنوان جایگاه اتصال برای RNA پلی‌مراز و تعیین محل آغاز رونویسی، تعیین می‌کند که کدام‌یک از دو رشتهٔ موجود در مارپیچ DNA به‌عنوان الگو استفاده خواهد شد.

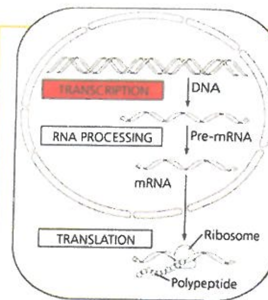
نواحی خاصی از راه‌انداز، از اهمیت ویژه‌ای برای اتصال به RNA پلی‌مراز برخوردار هستند. در باکتری‌ها، خود RNA پلی‌مراز به‌طور اختصاصی راه‌انداز را تشخیص داده و به آن اتصال می‌یابد. در یوکاریوت‌ها، مجموعه‌ای از پروتئین‌ها به نام **عوامل رونویسی**[6]، اتصال RNA پلی‌مراز و آغاز رونویسی را میانجی‌گری می‌کنند. تنها بعد از آنکه عوامل رونویسی خاصی به راه‌انداز چسبیدند، RNA پلی‌مراز II نیز می‌تواند به آن متصل شود. مجموعهٔ کامل عوامل رونویسی به‌همراه RNA پلی‌مراز II متصل به راه‌انداز را مجموعهٔ (**کمپلکس) آغاز رونویسی**[7] می‌نامند. **شکل ۸- ۱۷**، نقش عوامل رونویسی و یک توالی راه‌اندازی ضروری با نام **جعبهٔ TATA** را در تشکیل کمپلکس آغازین در یوکاریوت‌ها نشان می‌دهد.

میانکنش بین RNA پلی‌مراز II یوکاریوتی و عوامل رونویسی، مثالی از اهمیت میانکنش‌های پروتئین با پروتئین در کنترل رونویسی یوکاریوت‌ها است. زمانی‌که پلی‌مراز، محکم به راه‌انداز DNA اتصال یافت، دو رشتهٔ DNA از هم باز شده و آنزیم رونویسی رشتهٔ الگو را آغاز می‌کند.

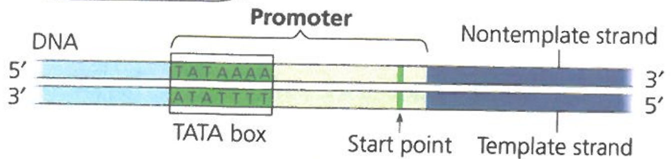
طویل شدن رشتهٔ RNA

همچنان‌که RNA پلی‌مراز در طول DNA شروع به حرکت می‌کند، به باز کردن مارپیچ دوتایی DNA ادامه می‌دهد تا تقریباً ده تا بیست باز DNA را در هر لحظه برای جفت شدن با نوکلئوتیدهای RNA در معرض قرار دهد (**شکل ۹- ۱۷**). این آنزیم در حین عبور از مارپیچ دوتایی DNA، نوکلئوتیدها را به انتهای $3'$ مولکول RNAی در حال رشد می‌افزاید. در پشت این مجموعهٔ روبه جلوی ساخت RNA، مولکول RNAی ساخته‌شده، از الگوی DNA خود جدا شده و ساختار مارپیچ دوتایی DNA دوباره تشکیل می‌شود. رونویسی در یوکاریوت‌ها با سرعتی معادل ۴۰ نوکلئوتید در ثانیه پیش می‌رود.

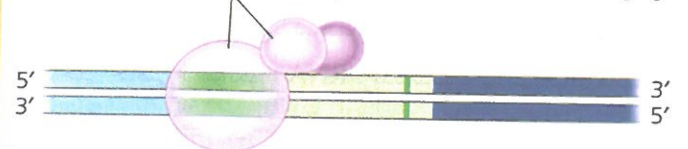
6- Transcription factors
7- Transcription Initiation Complex



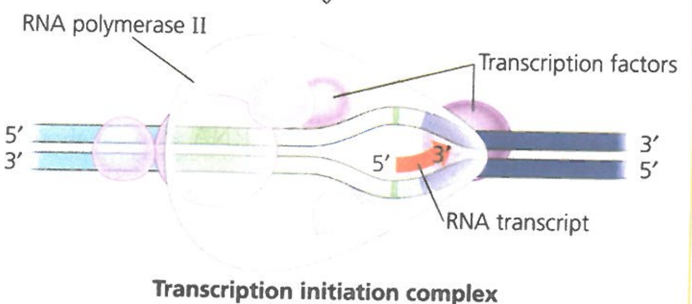
(۱) یک راه‌انداز یوکاریوتی معمولاً دارای یک جعبهٔ TATA (توالی نوکلئوتیدی حاوی TATA) است، که حدود ۲۵ نوکلئوتید در فرادست نقطهٔ آغاز رونویسی قرار دارد. (طبق قرارداد، توالی‌های نوکلئوتیدی بر اساس توالی رشتهٔ غیر الگو مشخص می‌شوند.)



(۲) عوامل رونویسی متعدد. یک عامل شناسایی‌کنندهٔ جعبهٔ TATA، بایستی قبل از اینکه RNA پلی‌مراز II بتواند در جهت و موقعیت صحیح به DNA وصل شود، به آن متصل شود.



(۳) سایر عوامل رونویسی (ارغوانی) همراه با RNA پلی‌مراز II به DNA وصل می‌شوند و کمپلکس آغاز رونویسی را تشکیل می‌دهند. سپس RNA پلی‌مراز II، مارپیچ مضاعف DNA را باز می‌کند و سنتز RNA از نقطهٔ آغاز بر روی رشتهٔ الگو آغاز می‌شود.



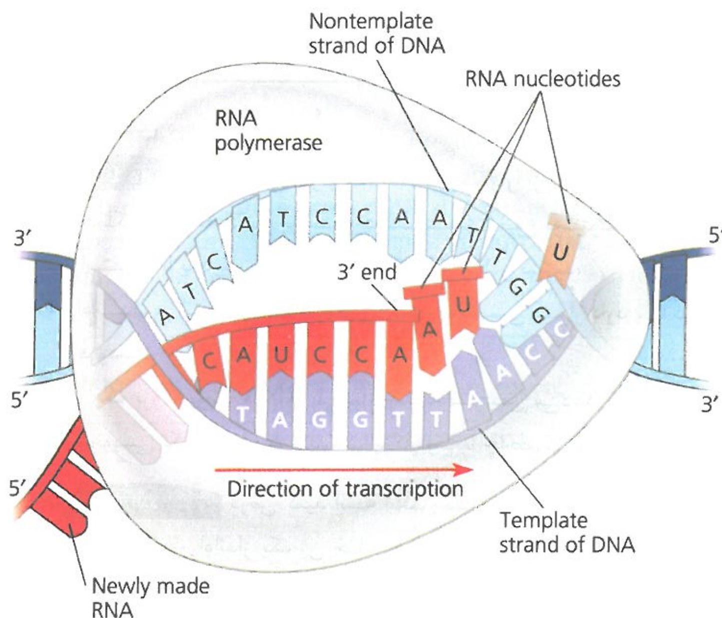
◀ شکل ۸- ۱۷ آغاز رونویسی برروی یک راه‌انداز (پروموتر) یوکاریوتی.
در یک سلول یوکاریوتی، پروتئین‌هایی که فاکتورهای رونویسی نامیده می‌شوند واسطهٔ آغاز رونویسی به‌وسیله آنزیم RNA پلی‌مراز II هستند.

؟ توضیح دهید که اگر این شکل شروع رونویسی را برای باکتری‌ها نشان می‌داد، میانکنش RNA پلی‌مراز با پروموتر چه تفاوتی داشت.

یک ژن منفرد می‌تواند به‌طور همزمان توسط چندین مولکول RNA پلی‌مراز، به‌صورت پشت سر هم، همانند کاروانی از کامیون‌ها رونویسی گردد. رشتهٔ RNAی در حال رشد، از پشت هر پلی‌مراز خارج شده و طول هر یک از این رشته‌ها نمایان‌گر مسافتی (از رشتهٔ الگو) است که آنزیم از نقطهٔ آغاز دور شده است. (به مولکول RNA پیک در شکل ۲۵- ۱۷ توجه کنید). اجتماع همزمان تعداد زیادی مولکول پلی‌مراز که به‌طور همزمان یک ژن منفرد را رونویسی می‌کنند، میزان RNA پیک حاصل از آن را افزایش داده و به سلول در تولید مقادیر بالای پروتئین کمک می‌نمایند.

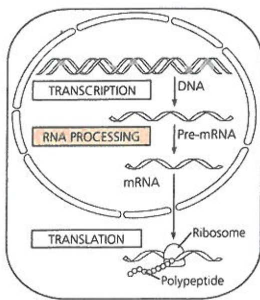
پایان رونویسی

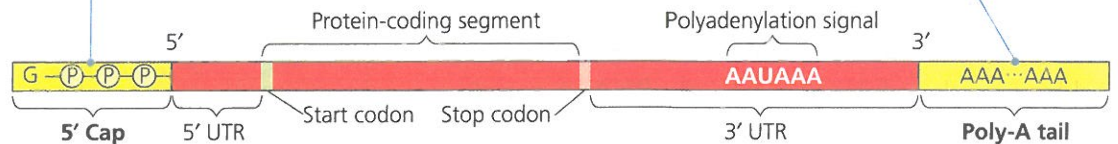
فرایند خاتمهٔ رونویسی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها تفاوت دارد. در پروکاریوت‌ها، رونویسی تا یک توالی خاتمه‌دهنده در DNA پیش می‌رود. توالی خاتمه‌دهندهٔ رونویسی‌شده (توالی RNA)، به‌عنوان علامت پایان عمل کرده و موجب می‌شود که پلی‌مراز از DNA جدا شده و رونوشت را آزاد کند، که این رونوشت بلافاصله به‌عنوان RNA پیک استفاده خواهد شد. در یوکاریوت‌ها RNA پلی‌مراز II، یک توالی از DNA به‌نام علامت پلی‌آدنیله شدن[1] را رونویسی می‌کند که یک علامت پلی‌آدنیله شدن (AAUAAA) را در RNA پیک اولیه رمز می‌کند. سپس در نقطه‌ای حدود ۱۰ تا ۳۵ نوکلئوتید فرودست علامت AAUAAA، پروتئین‌هایی که



◀ شکل ۹-۱۷ طویل شدن رونوشت RNA. *RNA پلی‌مراز در طول رشتهٔ DNAی الگو حرکت می‌کند و نوکلئوتیدهای RNAی مکمل را به انتهای ′3 رونوشت RNAی در حال رشد می‌افزاید. در عقب پلی‌مراز، RNAی تازه‌ساز از رشتهٔ الگو جدا می‌شود. آنگاه رشتهٔ الگو با رشتهٔ غیر الگو دوباره مارپیچ مضاعف تشکیل می‌دهد.*

1- Polyadenylation signal





▶ **شکل ۱۰- ۱۷ پردازش RNA: افزودن کلاهک '۵ و دم پلی A.** *آنزیم‌هایی دو انتهای مولکول RNA پیک اولیهٔ یوکاریوتی را تغییر می‌دهند. انتهاهای تغییریافته سبب تسهیل خروج RNA پیک از هسته و حفاظت از آن در مقابل تجزیه‌شدن می‌گردد. هنگامی‌که RNA پیک به سیتوپلاسم می‌رسد، دو انتهای تغییریافته به‌همراه پروتئین‌های خاص سیتوپلاسمی، اتصال به ریبوزوم را میسّر می‌کنند. کلاهک '۵ و دم پلی‌A به پروتئین ترجمه نمی‌شوند. این مسأله در مورد ناحیهٔ غیرقابل ترجمهٔ '۳ (3′ UTR) و ناحیهٔ غیرقابل ترجمهٔ '۵ (5′UTR) نیز صادق است.*

همراه رونوشت RNAی درحال رشد هستند، RNA را بریده و RNA پیک اولیه را آزاد می‌کنند. آنزیم پلی‌مراز در ناحیه‌ای که RNA پیک اولیه بریده می‌شود به اندازهٔ صدها نوکلئوتید به رونویسی ادامه می‌دهد. رونویسی زمانی‌که آنزیم در نهایت از روی DNA منحرف می‌شود (با یک مکانیسم نامعلوم) خاتمه می‌یابد. بعد از آنکه RNA پیک اولیه ساخته شد در خلال فرایند پردازش تغییر می‌یابد که موضوع بحث ما در بخش بعدی می‌باشد.

پرسش‌های مبحث ۲-۱۷

۱. **ارتباط دهید** DNA پلی‌مراز و RNA پلی‌مراز را از لحاظ چگونگی عملکرد، نیاز به الگو و پرایمر، جهت سنتز و نوع نوکلئوتید مورد استفاده، با یکدیگر مقایسه کنید. شکل ۱۷-۱۶ را ببینید.

۲. راه‌انداز در انتهای فرادست واحد رونویسی قرار دارد یا در فرودست آن؟

۳. در یک پروکاریوت، RNA پلی‌مراز چگونه تشخیص می‌دهد که از کجا رونویسی یک ژن را آغاز کند؟ در یوکاریوت‌ها چه‌طور؟

۴. **چه می‌شد اگر؟** فرض کنید اشعهٔ ایکس یک تغییر در توالی جعبهٔ TATA در راه‌انداز یک ژن خاص ایجاد کند. این تغییر چگونه رونویسی ژن را تغییر می‌دهد؟ (شکل ۸- ۱۷ را ببینید).

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

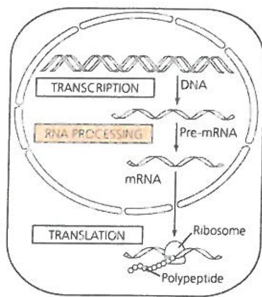
۳-۱۷ سلول‌های یوکاریوتی، RNA را پس از رونویسی تغییر می‌دهند

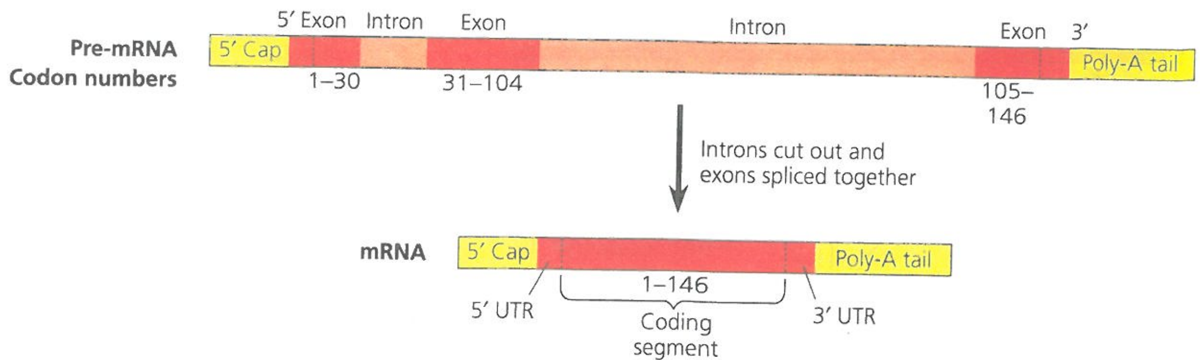
آنزیم‌هایی در هستهٔ سلول‌های یوکاریوتی، RNA پیک اولیه را به‌طور اختصاصی، قبل از آنکه پیام ژنتیکی به سیتوپلاسم فرستاده شود، تغییر می‌دهند. در حین فرایند **پردازش RNA**[1]، هر دو انتهای رونوشت اولیه تغییر می‌یابد. همچنین در اغلب موارد، بخش‌های داخلی خاصی از مولکول RNA بریده شده و نواحی باقی‌مانده به یکدیگر چسبانیده می‌شوند. این تغییرات به تشکیل یک مولکول RNA پیک آماده برای ترجمه کمک می‌کنند.

تغییرات نواحی انتهایی RNA پیک

هر دو انتهای مولکول RNA پیک اولیه به روش خاصی تغییر می‌یابد (**شکل ۱۰- ۱۷**). انتهای '۵ که در ابتدا رونویسی می‌شود، بعد از رونویسیِ ۲۰ تا ۴۰ نوکلئوتید اول، یک نوکلئوتید گوانین تغییریافته، به‌نام **کلاهک '۵**[2] دریافت می‌کند. انتهای '۳ مولکول RNA پیک اولیه نیز قبل از آنکه هسته را ترک کند، تغییر می‌یابد. به یاد آورید که RNA پیک اولیه به‌زودی پس از آنکه علامت پلی‌آدنیلاسیون AAU AAA رونویسی شد، رها می‌شود. یک آنزیم، ۵۰ تا ۲۵۰ نوکلئوتید آدنین را به انتهای '۳ رونوشت می‌افزاید و تشکیل یک **دم پلی A**[3] می‌دهد. کلاهک '۵ و دم پلی A چندین عملکرد مهم را انجام می‌دهند. نخست آنکه به‌نظر می‌رسد آنها صدور RNA پیک بالغ از هسته را تسهیل می‌نمایند. دوم اینکه، آنها از تجزیهٔ RNA پیک به‌وسیله آنزیم‌های هیدرولیزکننده جلوگیری می‌کنند. و سوم، هنگامی‌که RNA پیک به سیتوپلاسم رسید، هر دو ساختار به اتصال ریبوزوم به انتهای '۵ RNA پیک کمک می‌کنند. شکل ۱۰- ۱۷، تصویری از یک مولکول RNA پیک با کلاهک و دم را نشان می‌دهد. در این شکل همچنین نواحی

1- RNA processing
2- 5′ cap
3- poly-A tail





◀ **شکل ۱۱– ۱۷ پردازش RNA: پیرایش.** مولکول RNAیی که در اینجا نشان داده شده، یکی از پلی‌پپتیدهای هموگلوبین یا بتا ـ گلوبین، را رمز می‌کند. شماره‌های زیر RNA، نشانگر کدون‌های آن است. بتا ـ گلوبین ۱۴۶ آمینواسید طول دارد. ژن بتا ـ گلوبین و رونوشت RNA پیک اولیه‌اش، سه اگزون دارند که متناسب با توالی‌هایی هستند که به‌عنوان RNA پیک بالغ هسته را ترک می‌کنند. (بخش‌های ۵′UTR و ۳′UTR غیرترجمه‌شونده قسمتی از اگزون هستند زیرا آنها در RNA پیک وجود دارند ولی هیچ بخشی از پروتئین را رمز نمی‌کنند.) در حین پردازش RNA، اینترون‌ها بریده شده و اگزون‌ها به همدیگر چسبانیده می‌شوند.

غیرترجمه‌شونده[1] (UTR) در انتهای ′۵ و ′۳ RNA پیک (5′ UTR و 3′ UTR نامیده می‌شوند) نشان داده شده است. نواحی غیرترجمه‌شونده بخش‌هایی از RNA پیک هستند که به پروتئین ترجمه نمی‌شوند ولی از عملکردهای دیگری مثل اتصال به ریبوزوم برخوردار هستند.

ژن‌های گسسته و پیرایش RNA

مهم‌ترین مرحله از فرایند پردازش RNA در هستهٔ یوکاریوتی، حذف بخش بزرگی از مولکول RNA است که در ابتدا ساخته شده است. این عمل برش و اتصال مجدد را **پیرایش RNA**[2] می‌نامند (**شکل ۱۱– ۱۷**). میانگین اندازهٔ واحدهای رونویسی موجود در مولکول DNA انسان نزدیک به ۲۷۰۰۰ جفت‌باز است، بنابراین رونوشت RNA اولیه نیز بلند است. اما تنها حدود ۱۲۰۰ نوکلئوتید برای رمز کردن ۴۰۰ آمینواسید پروتئینی با اندازهٔ متوسط کافی است. (به‌یاد داشته باشید که هر آمینواسید به‌وسیله یک *توالی سه‌گانه* از نوکلئوتیدها رمز می‌شود.) این بدان معنی است که بیشتر ژن‌های یوکاریوتی و رونوشت‌های آنها، قطعات غیررمزکنندهٔ بلندی از نوکلئوتیدها دارند که ترجمه نمی‌شوند. نکتهٔ عجیب‌تر آن است که بیش‌تر این توالی‌های غیررمزگذار، بین قطعات رمزکنندهٔ ژن و بنابراین، بین نواحی رمزگذار RNA پیک اولیه پراکنده هستند. به بیان دیگر، توالی نوکلئوتیدهای DNAی رمزکنندهٔ پلی‌پپتیدهای یوکاریوتی، پیوسته نبوده و به‌صورت چند قطعه‌ای هستند. نواحی غیررمزگذار نوکلئیک اسید که مابین نواحی رمزگذار قرار گرفته‌اند را توالی‌های فاصله‌انداز یا **اینترون**[3] می‌نامند. دیگر نواحی را به‌دلیل آنکه در پایان بیان می‌شوند، **اگزون**[4] می‌نامند که معمولاً به توالی‌های آمینواسیدی ترجمه می‌شوند. (استثنای این امر، شامل نواحی UTR اگزونی می‌باشد که در دو انتهای RNA قرار گرفته و بخشی از RNA پیک را تشکیل می‌دهند ولی به پروتئین ترجمه نمی‌شوند. به‌خاطر این استثناها بهتر است که این طور فکر کنید که اگزون‌ها توالی‌هایی از RNA هستند که از هسته خارج می‌شوند.) واژه‌های اینترون و اگزون در مورد توالی‌های RNA و نیز DNA که آنها را رمز می‌کنند به‌کاربرده می‌شود.

در حین ساخت رونوشت اولیه از ژن، آنزیم RNA پلی‌مراز II اینترون‌ها و اگزون‌ها را از روی DNA رونویسی می‌کند، اما مولکول RNA پیکی که به سیتوپلاسم وارد می‌شود، نوع کوتاه شدهٔ رونوشت اولیه است. اینترون‌ها از مولکول اولیه بریده شده و اگزون‌ها به یکدیگر می‌چسبند تا یک RNA پیک با توالی رمزکنندهٔ پیوسته تشکیل شود. این فرایند، پیرایش RNA نام دارد.

چگونه پیرایش RNAی اولیه انجام می‌گیرد؟ محققان دریافته‌اند که علامت پیرایش RNA، یک توالی نوکلئوتیدی کوتاه در هر انتهای یک اینترون است. ذراتی با نام *ریبونوکلئوپروتئین‌های کوچک هسته‌ای*[5] که به‌طور خلاصه snRNP نوشته می‌شوند (اسنورپ تلفظ می‌شود)، این جایگاه‌های پیرایش را شناسایی می‌کنند. همان‌گونه‌که نام آنها نشان می‌دهد، این ذرات در هستهٔ سلول قرار داشته و از مولکول‌های RNA و پروتئین تشکیل شده‌اند.

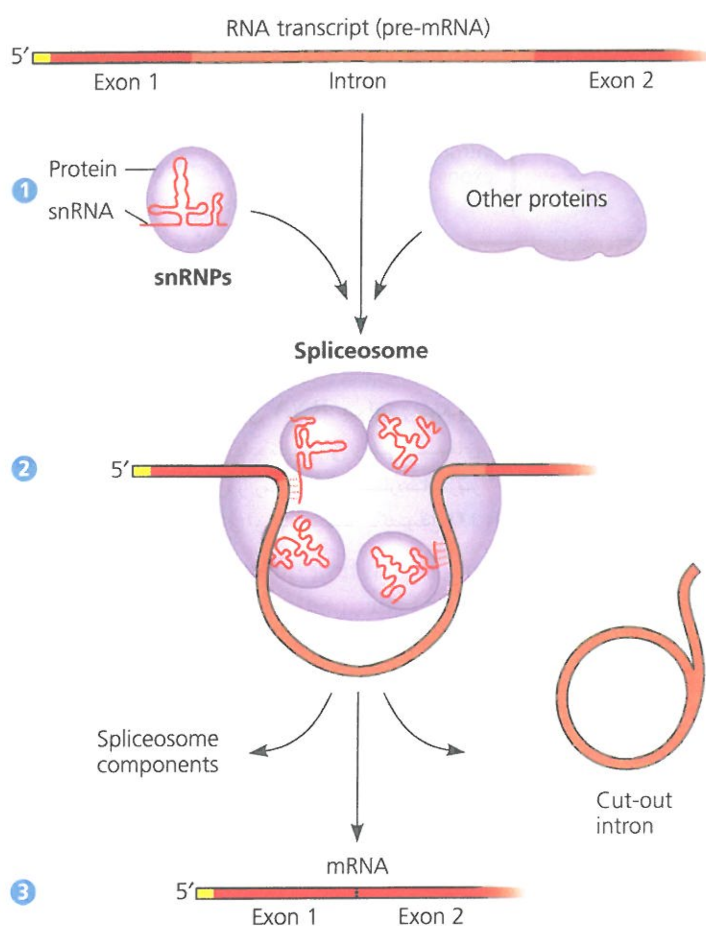
1- Untranslated regions (UTR)
2- RNA splicing
3- Intron
4- Exon
5- Small nuclear ribonucleoproteins

RNAی موجود در ذرهٔ اسنورپ، *RNA کوچک هسته‌ای*[1] (snRNA) نامیده می‌شود که حدود ۱۵۰ نوکلئوتید طول دارد. چندین اسنورپ مختلف با چند پروتئین دیگر، متصل شده و یک ساختار بزرگ‌تر به‌نام **جسم پیرایشگر**[2] را تشکیل می‌دهند که تقریباً به بزرگی ریبوزوم است. جسم پیرایشگر با جایگاه‌های خاصی درون یک اینترون میانکنش کرده، اینترون را رها ساخته (که به سرعت تجزیه می‌شود)، و دو اگزون اطراف اینترون را به یکدیگر متصل می‌کند (**شکل ۱۲-۷**). شواهد محکمی وجود دارد که RNAهای کوچک هسته‌ای در این فرایندهای کاتالیتیکی و نیز در سرهم‌بندی جسم پیرایشگر و شناسایی جایگاه پیرایش شرکت می‌کنند.

ریبوزیم‌ها

ایدهٔ وجود نقش کاتالیتیک برای RNA کوچک هسته‌ای با کشف **ریبوزیم‌ها**[3]، مولکول‌های RNA ای که مانند آنزیم‌ها عمل می‌کنند، شکل گرفت. در بعضی از جانداران، پیرایش RNA می‌تواند بدون وجود پروتئین‌ها یا مولکول‌های RNA اضافی خودبه‌خود به‌وقوع بپیوندد. در این موارد، RNAی اینترونی به‌صورت یک ریبوزیم عمل کرده و برش خود را انجام می‌دهد! به‌طور مثال، در یک پروتوزوآ با نام *تتراهیمنا*[4]، خودپیرایشی در تولید RNA ریبوزومی که از اجزای ریبوزوم‌های جانداران به‌شمار می‌رود، اتفاق می‌افتد. در حقیقت، RNA ریبوزومی اولیه، اینترون‌های خود را حذف می‌کند. کشف ریبوزیم‌ها این ایده که پروتئین‌ها تنها کاتالیزگرهای زیستی، هستند را منسوخ کرد.

سه ویژگی RNA، بعضی از مولکول‌های RNA را قادر می‌سازد تا به‌عنوان آنزیم عمل کنند. نخست، چون RNA تک‌رشته‌ای است، یک منطقه از مولکول RNA ممکن است با یک منطقهٔ مکمل از همان RNA در یک محل دیگر جفت شود که این خاصیت یک ساختار سه‌بعدی خاص به مولکول می‌بخشد. داشتن ساختاری ویژه، برای عملکرد کاتالیتیکی ریبوزیم‌ها اساسی است، همان‌طور که برای آنزیم‌های پروتئینی اساسی می‌باشد. دوم، مانند آمینواسیدهای خاص در یک آنزیم پروتئینی، بعضی از بازهای موجود در RNA، گروه‌های عملکردی را تشکیل می‌دهند که ممکن است در کاتالیز شرکت کنند. سوم، توانایی RNA برای برقراری پیوندهای هیدروژنی با سایر مولکول‌های نوکلئیک اسیدی (RNA یا DNA)، عملکرد کاتالیتیک آن را اختصاصی‌تر می‌کند. برای مثال، جفت شدن بازهای مکمل بین RNAی جسم پیرایشگر و RNAی



شکل ۱۲- ۱۷ نقش snRNP و جسم پیرایشگر در پیرایش mRNA اولیه. *این دیاگرام، فقط بخشی از رونوشت mRNA اولیه را نشان می‌دهد؛ اگزون‌ها و اینترون‌های دیگری در فرودست بخش‌هایی که نشان داده شده‌اند، وجود دارد. (۱) ریبونوکلئوپروتئین‌های کوچک هسته‌ای (snRNP) و پروتئین‌های دیگر، یک کمپلکس مولکولی به‌نام جسم پیرایشگر را برروی یک مولکول mRNA اولیه حاوی اگزون‌ها و اینترون‌ها، تشکیل می‌دهند. (۲) درون جسم پیرایشگر، snRNA با نوکلئوتیدهایی در جایگاه‌هایی خاص از طول اینترون، جفت‌باز تشکیل می‌دهد. (۳) جسم پیرایشگر، mRNA اولیه را می‌بُرد، اینترون را آزاد می‌کند، و در همان زمان اگزون‌ها را به هم متصل می‌نماید. سپس جسم پیرایشگر جدا شده و mRNAیی را آزاد می‌کند که اکنون فقط دارای اگزون‌ها است.*

مربوط به رونوشت RNA اولیه، دقیقاً محلی که ریبوزیم پیرایش را کاتالیز می‌کند، مشخص می‌نماید. بعداً در این فصل خواهید دید که چگونه این ویژگی‌های RNA به آن اجازه می‌دهند تا عملکردهای غیرکاتالیتیک مهمی مانند شناسایی کدون‌های سه‌نوکلئوتیدی RNA پیک را نیز در سلول انجام دهد.

اهمیت عملکردی و تکاملی اینترون‌ها

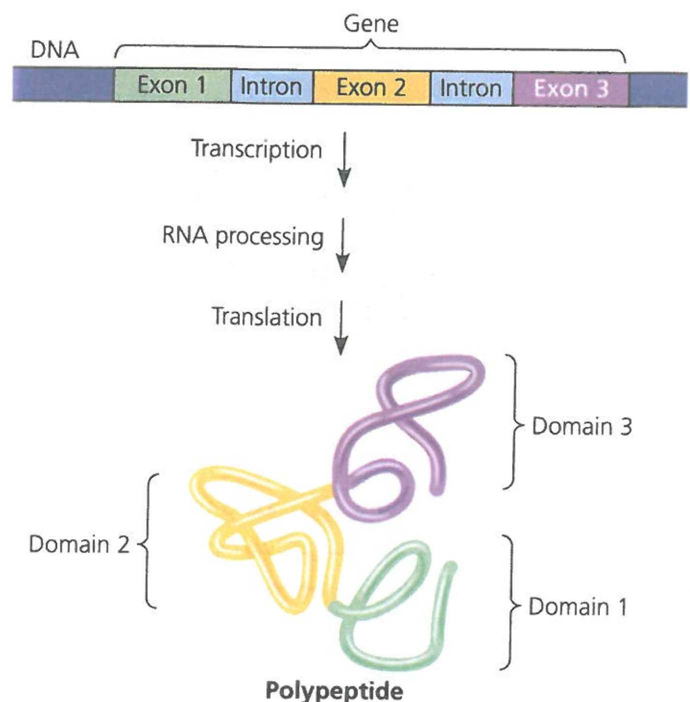
اینکه پیرایش RNA و وجود اینترون‌ها در طی تاریخچهٔ تکاملی، فواید گزینشی داشته است یا خیر، تا حدودی مورد تردید قرار دارد. با این وجود، توجه به فواید سازشی احتمالی اینترون‌ها

1- Small nuclear RNA
2- Spliceosome
3- Ribozymes
4- *Tetrahymena*

آموزنده است. برای اغلب اینترون‌ها، عملکردهای خاصی شناخته نشده است، اما حداقل برخی از اینترون‌ها حاوی توالی‌هایی هستند که بیان ژن را تنظیم می‌کنند و بسیاری از اینترون‌ها بر روی فرآورده‌های ژنی تأثیر می‌گذارند.

یک فایدهٔ حضور اینترون‌ها درون ژن‌ها این است که یک ژن منفرد را قادر می‌سازد تا بیش از یک نوع پلی‌پپتید را رمزگذاری کند. شماری از ژن‌ها شناخته شده‌اند که بسته به آنکه طی پیرایش RNA کدام‌یک از اگزون‌ها انتخاب می‌شوند، دو یا چندین پروتئین را تولید می‌نمایند. این عمل، **پیرایش متناوب RNA**[1] نامیده می‌شود (به شکل ۱۳- ۱۸ نگاه کنید). به‌طور مثال، تفاوت جنس در مگس‌های سرکه عمدتاً به چگونگی پیرایش RNAی رونویسی‌شده از ژن‌های خاصی در نرها و ماده‌ها وابسته است. نتایج پروژهٔ ژنوم انسان که در فصل ۲۱ به آن پرداخته شده است پیشنهاد می‌نماید که پیرایش متناوب RNA یکی از دلایلی است که چرا انسان تقریباً به تعداد یک کرم لوله‌ای (نماتود)، ژن دارد. با وجود پیرایش متناوب، تعداد پروتئین‌های مختلفی که یک موجود می‌توانند تولید کند، بسیار بیشتر از تعداد ژن‌های آن است.

پروتئین‌ها اغلب یک ساختار چندبخشی دارند که از قسمت‌های مجزای ساختاری و عملکردی با نام **دُمین**[2] تشکیل شده‌اند. به‌عنوان مثال، درحالی‌که یک دُمین از یک پروتئین آنزیمی ممکن است دارای جایگاه فعال باشد، دُمین دیگر آن ممکن است قادر باشد پروتئین را به غشای سلولی متصل کند. در بسیاری از موارد، اگزون‌های مختلف، دُمین‌های مختلف یک پروتئین را رمزگذاری می‌کنند (**شکل ۱۳- ۱۷**).



◀ شکل ۱۳- ۱۷ **ارتباط بین اگزون‌ها و دُمین‌های پروتئینی.**

وجود اینترون‌ها در یک ژن ممکن است تکامل پروتئین‌های جدید و بالقوه مفید را درنتیجهٔ فرایندی با نام **بُرخوردن اگزونی**[3] مهیا نماید. اینترون‌ها احتمال کراسینگ اور بالقوه مفید را بین اگزون‌های الل‌ها بیشتر می‌کنند. این عمل اینترون‌ها به سادگی با ایجاد یک محدودهٔ وسیع‌تر برای انجام کراس اور بدون اختلال در توالی‌های رمزکننده فراهم می‌شود. همچنین می‌توان تصور نمود که مخلوط شدن تصادفی و ترکیب شدن اگزون‌های ژن‌های کاملاً متفاوت (غیراللی) نیز در این میان رخ دهد. بُرخوردن اگزونی از هر نوع آن منجر به یک پروتئین با مجموعه‌ای از فعالیت‌های جدید خواهد شد. درحالی‌که اغلب فرایندهای بُرخوردن سرانجام به تغییرات غیرسودمند می‌انجامد، گاهی نیز به‌طور اتفاقی یک تغییر مفید حاصل می‌گردد.

پرسش‌های مبحث ۳-۱۷

۱. سلول‌های انسانی چگونه ۷۵,۰۰۰-۱۰۰,۰۰۰ پروتئین مختلف را می‌سازند؟ توجه داشته باشید که حدود ۲۰,۰۰۰ ژن انسانی وجود دارند.

۲. از چه نظر پیرایش RNA، شبیه پیرایش یک فیلم ویدئویی است؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** تیمار سلول‌ها با عاملی که کلاهک mRNA را حذف می‌کند، چه تأثیری دارد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۴-۱۷ نگاهی دقیق‌تر به ترجمه: فرایند ساخت پلی‌پپتید از روی RNA

اکنون با جزئیات بیشتری به بررسی چگونگی انتقال جریان اطلاعات ژنتیکی از RNA پیک به پروتئین، یعنی فرایند ترجمه خواهیم پرداخت. در اینجا نیز همانند بخش رونویسی، برروی مراحل اساسی ترجمه که در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها اتفاق می‌افتد توجه خواهیم نمود و به تفاوت‌های کلیدی بین این دو نیز اشاره خواهیم کرد.

1- Alternative RNA splicing
2- Domain
3- Exon shuffling

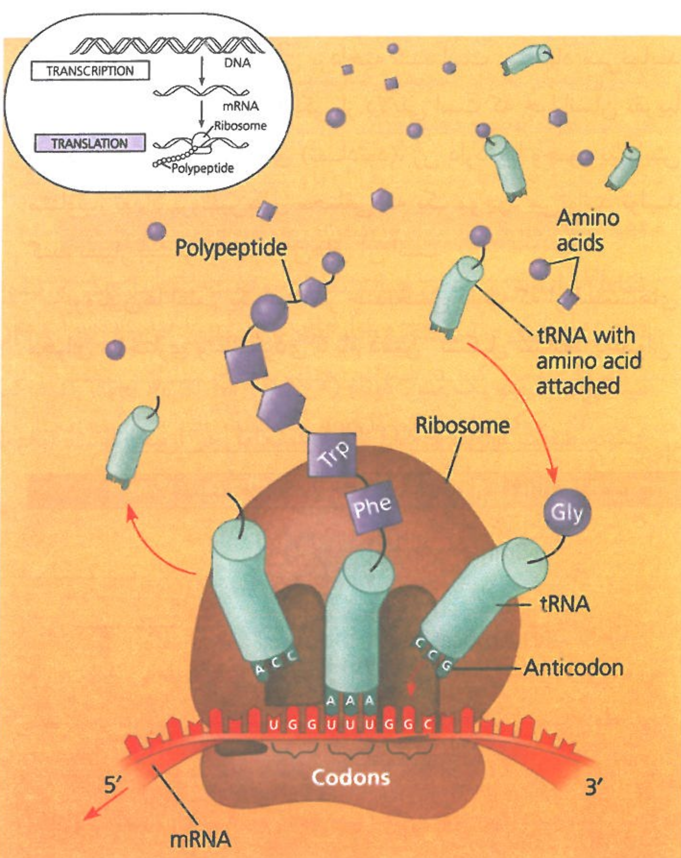
اجزای مولکولیِ ترجمه

در فرایند ترجمه، یک سلول پیام ژنتیکی را ترجمه نموده و متناسب با آن یک پلی‌پپتید می‌سازد. پیام، مجموعه‌ای از کدون‌ها برروی مولکول RNA پیک است و مترجم نیز **RNA ناقل**[1] (tRNA) نامیده می‌شود. عملکرد RNA ناقل این است که آمینواسیدها را از مخزن سیتوپلاسمی به ریبوزوم انتقال دهد. یک سلول، سیتوپلاسم خود را به‌صورت مخزنی از بیست آمینواسید حفظ نموده و این کار را، هم از طریق سنتز آمینو اسیدها از دیگر مولکول‌ها و هم به‌وسیلهٔ برداشت آنها از محیط اطراف به انجام می‌رساند. ریبوزوم‌ها آمینو اسیدهای آورده‌شده توسط RNA ناقل را به انتهای رشتهٔ پلی‌پپتید درحال رشد اضافه می‌کنند (**شکل ۱۴- ۱۷**).

ترجمه اصولاً فرایند ساده‌ای است، اما از نظر مکانیکی و بیوشیمیایی، خصوصاً در سلول‌های یوکاریوتی، فرایند پیچیده‌ای است. برای تشریح ترجمه، بر روی ساده‌ترین مدل فرایند تمرکز می‌کنیم که در باکتری‌ها رخ می‌دهد. ما با اشاره به بازیگران اصلی، این فرایند سلولی را آغاز خواهیم کرد و سپس خواهیم دید که چگونه آنها با یکدیگر عمل کرده و یک پلی‌پپتید را می‌سازند.

یک نکتهٔ کلیدی در ترجمهٔ پیام ژنتیکی به توالی اختصاصی آمینواسیدها این است که هر نوع مولکول RNA ناقل، یک کدون خاص از RNA پیک را به آمینواسید متناسب ترجمه می‌کند. هنگامی‌که مولکول RNA ناقل به ریبوزوم وارد می‌شود، حامل یک آمینواسید اختصاصی در انتهای خود است. در انتهای دیگر RNA ناقل، یک توالی سه نوکلئوتیدی به‌نام **آنتی‌کدون**[2] وجود دارد که با کدون مکمل برروی RNA پیک، جفت می‌شود. به‌عنوان نمونه، کدون UUU برروی RNA پیک را به‌یاد آورید که به آمینواسید فنیل‌آلانین ترجمه می‌شود. RNA ناقلی که با این کدون از طریق پیوند هیدروژنی جفت می‌شود، دارای توالی آنتی‌کدون AAA بوده و فنیل‌آلانین را در انتهای دیگر خود حمل می‌کند (به RNA ناقل وسط تصویر در شکل ۱۴- ۱۷ نگاه کنید). وقتی که یک مولکول RNA پیک از میان ریبوزوم حرکت می‌کند، درصورتی‌که کدون UUU برروی آن وجود داشته باشد فنیل‌آلانین را به زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی خواهد افزود. پیام ژنتیکی به‌صورت کدون به کدون و با کمک RNA ناقل که آمینو اسیدها را با ترتیب مشخصی در کنار هم قرار می‌دهد، ترجمه شده و ریبوزوم این آمینو اسیدها را به‌صورت یک رشتهٔ پیوسته به یکدیگر متصل می‌نماید. مولکول RNA ناقل یک مترجم است زیرا می‌تواند زبان اسید نوکلئیکی را خوانده (کدون mRNA) و آن‌را به‌صورت زبان پروتئینی ترجمه نماید.

مانند RNA پیک و دیگر انواع RNA سلولی، مولکول‌های RNA ناقل نیز از روی مولکول DNA رونویسی می‌شوند. در یک سلول یوکاریوتی، RNA ناقل همچون RNA پیک در هسته ساخته شده و بایستی به سیتوپلاسم یعنی محل انجام ترجمه فرستاده شود. در هر دو نوع سلول یوکاریوتی و پروکاریوتی، هر مولکول RNA ناقل بارها مورد استفاده قرار می‌گیرد یعنی آمینواسید اختصاصی خود را از سیتوزول برداشت کرده، محمولهٔ خود را به ریبوزوم سپرده و سپس ریبوزوم را به هدف برداشتن آمینواسید دیگری ترک می‌کند.



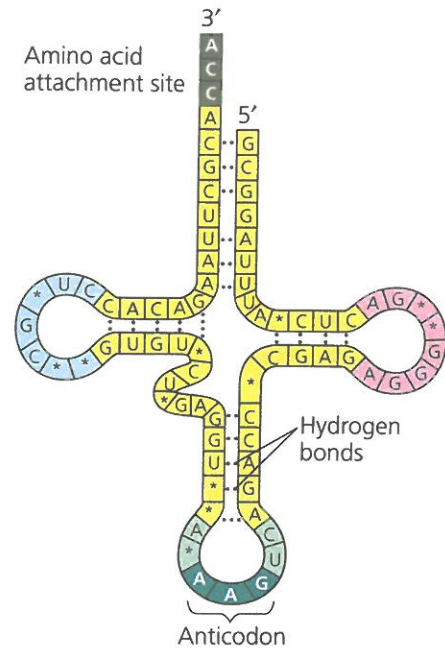
شکل ۱۴- ۱۷ ترجمه: مفهوم پایه. *وقتی که RNA پیک از میان ریبوزوم جابه‌جا می‌شود، کدون‌ها یکی‌یکی به آمینواسیدها ترجمه می‌شوند. در این مورد، مولکول‌های RNA ناقل نقش مترجم را دارند، که هر کدام یک آنتی‌کدون خاص در یک انتها و یک آمینواسید در انتهای دیگر دارند. RNA ناقل محمولهٔ آمینواسیدی خود را وقتی که آنتی‌کدون به کدون مکمل برروی RNA پیک متصل می‌شود به رشتهٔ پلی‌پپتیدی درحال ساخت می‌افزاید. تصاویر بعدی جزئیات ترجمه در سلول‌های پروکاریوتی را نشان می‌دهد.*

1- transfer RNA (tRNA)
2- Anticodon

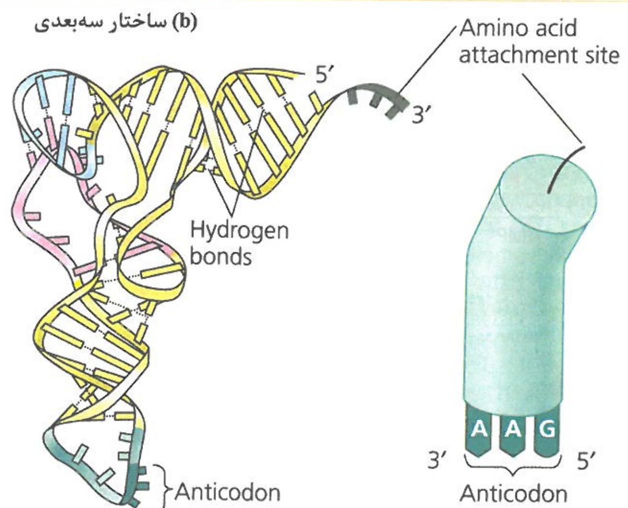
یک مولکول RNA ناقل از یک RNA تک‌رشته‌ای که تنها ۸۰ نوکلئوتید دارد، تشکیل شده است (در مقایسه با آن، بیشتر مولکول‌های RNA پیک، حاوی صدها نوکلئوتید هستند). به‌دلیل وجود زنجیره‌های مکمل از بازهایی که می‌توانند با یکدیگر پیوند هیدروژنی برقرار کنند، این ساختار تک‌رشته‌ای به روی خود تا خورده و یک مولکول با ساختار سه‌بعدی تشکیل می‌دهد. اگر یک مولکول RNA ناقل را در روی یک سطح در نظر بگیرید تا این نوع جفت شدن بازها در آن آشکار گردد، شبیه برگ شبدر به‌نظر خواهد رسید (**شکل ۱۵a- ۱۷**). RNA ناقل در واقع، پیچ و تاب خورده و به‌صورت یک ساختار فشردهٔ سه‌بعدی تقریباً L مانند درمی‌آید (**شکل ۱۵b- ۱۷**). حلقه‌ای که از یک انتهای مولکول L مانند بیرون زده است، شامل آنتی‌کدون یا باز سه‌تایی خاص است که به یک کدون خاص در RNA پیک اتصال می‌یابد. از بخش دیگرِ ساختار L مانندِ مولکول RNA ناقل، انتهای ′۳ آن بیرون زده که جایگاه اتصال یک آمینواسید است. بنابراین ساختمان مولکول RNA ناقل با عملکرد آن تناسب دارد.

ترجمهٔ صحیح پیام ژنتیکی نیازمند دو مرحله شناسایی است. ابتدا بایستی بین RNA ناقل و یک آمینواسید، اتصال صحیح برقرار شود. RNA ناقلی که به کدون اختصاصی یک آمینواسید می‌چسبد باید تنها آن آمینواسید اختصاصی را به ریبوزوم حمل کند. هر آمینواسید از طریق یک آنزیم اختصاصی با نام **آمینوآسیل ـ tRNA سنتتاز**[1] (**شکل ۱۶- ۱۷**) به RNA ناقل مناسب اتصال می‌یابد. جایگاه فعال هر نوع آنزیم آمینوآسیل ـ tRNA سنتتاز، تنها با ترکیبی از یک آمینواسید خاص و RNA ناقل آن متناسب است. بیست گونه سنتتاز مختلف وجود دارد که هریک اختصاصی یک آمینواسید می‌باشد و هر آنزیم قادر است به تمام انواع RNAهای ناقلی که ویژهٔ یک آمینواسید هستند، متصل شود. آنزیم سنتتاز، اتصال کووالانسیِ آمینواسید به RNA ناقل آن را در فرایندی که به‌وسیله هیدرولیز ATP انجام می‌گیرد، کاتالیز می‌نماید. آمینوآسیل ـ tRNA حاصل که tRNAی شارژشده نامیده می‌شود، از آنزیم آزاد شده و آمینواسید خود را به رشتهٔ پلی‌پپتیدی در حال رشد برروی ریبوزوم رها می‌کند.

دومین مرحلهٔ شناسایی شامل یک ارتباط صحیح بین آنتی‌کدونِ RNA ناقل و کدونِ RNA پیک است. اگر برای هر کدون RNA پیک که مشخص‌کنندهٔ یک آمینواسید است یک نوع RNA ناقل وجود داشته باشد بایستی ۶۱ RNA ناقل موجود باشد (به شکل ۵- ۱۷ نگاه کنید). درحقیقت، تنها حدود ۴۵ RNA ناقل



(a) ساختار دوبعدی. چهار ناحیهٔ جفت‌بازی، سه حلقه و توالی بازی انتهای ′۳ که محل اتصال آمینواسید است، مختص همهٔ tRNAها هستند. آنتی‌کدون سه حرفی، و نیز برخی توالی‌ها در دو حلقهٔ دیگر برای هر نوع tRNA منحصر به‌فرد هستند. (بازهایی که با ستاره مشخص شده‌اند، متحمل تغییرات شیمیایی شده‌اند، این ویژگی نیز مختص tRNA است. این بازهای تغییر یافته، به طریقی ناشناخته، در عملکرد tRNA نقش دارند.)



شکل ۱۵- ۱۷ ساختمان RNA ناقل (tRNA). به‌طور مرسوم، آنتی‌کدون‌ها به‌صورت ′۵ ← ′۳ نوشته می‌شوند تا به‌درستی با کدون‌ها که به‌صورت ′۳ ← ′۵ نوشته می‌شوند، هم‌ردیف گردند (به‌شکل ۱۴- ۱۷ نگاه کنید). رشته‌های RNA نیز برای آنکه با یکدیگر جفت شوند بایستی مانند DNA ناهمسو باشند. به‌طور مثال، آنتی‌کدون ′۵ ـ AAG ـ ′۳ با کدون ′۳ ـ UUC ـ ′۵ RNA پیک جفت می‌شود.

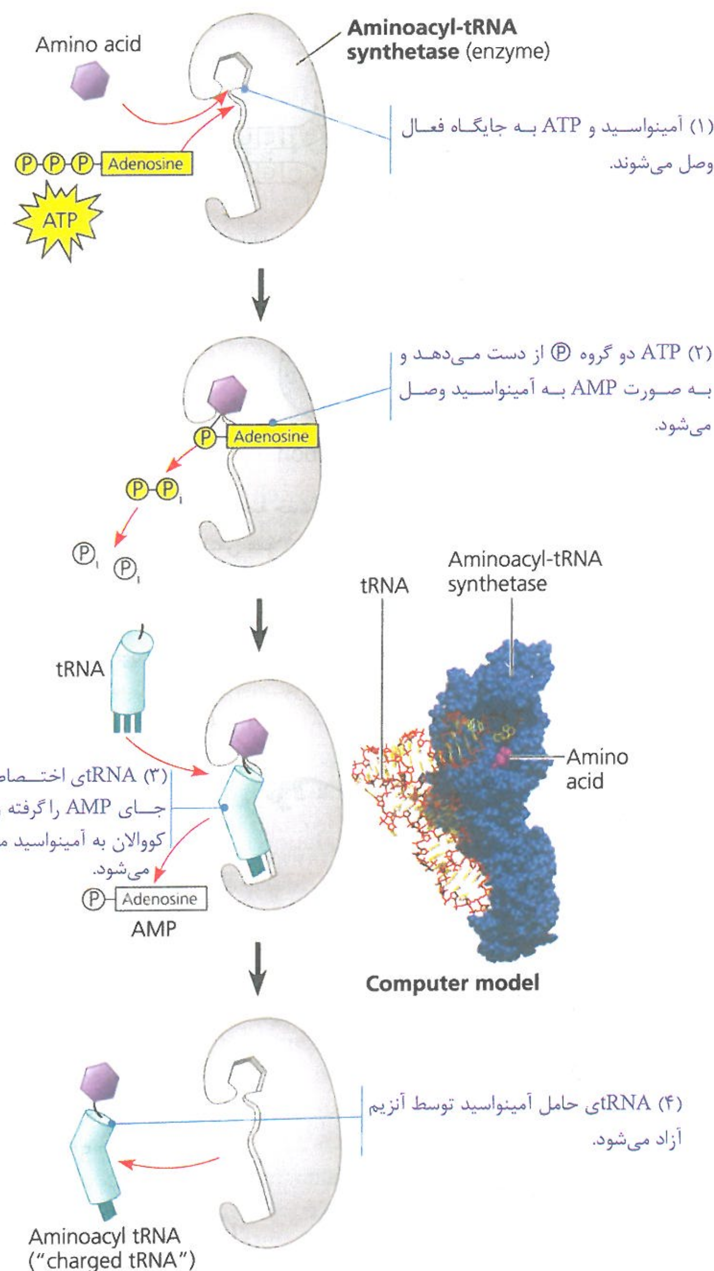
1- Aminoacyl-tRNA synthetase

موجود است که بیانگر آن است که بعضی از این مولکول‌ها بایستی قادر به اتصال به بیش از یک کدون باشند. چنین خصوصیتی به‌دلیل جفت شدن نسبی باز سوم کدون و باز متناسب آن برروی آنتی‌کدون RNA ناقل، امکان‌پذیر می‌شود. برای مثال، باز یوراسیل در انتهای ′۵ یک آنتی‌کدون RNA ناقل می‌تواند با آدنین یا گوانین در موقعیت باز سوم (در انتهای ′۳) از کدون RNA پیک جفت شود. چنین انعطاف‌پذیری در قانون جفت شدن بازها، پدیدهٔ **لغزش**[1] یا «جفت نشدن درست» نامیده می‌شود. «جفت نشدن درست» توضیحی است برای آنکه چرا کدون‌های هم‌معنی یک آمینواسید می‌توانند در باز سوم متفاوت اما در بقیهٔ بازها یکسان باشند. برای مثال، RNA ناقلی با آنتی‌کدون ′۵ - UCU - ′۳ می‌تواند با هر دو کدون RNA پیک ′۳ - AGA - ′۵ یا ′۳ - AGG - ′۵ جفت شود که هر دو آرژنین را رمز می‌کنند (شکل ۵- ۱۷ را ببینید).

ریبوزوم‌ها

ریبوزوم‌ها جفت شدن آنتی‌کدون‌های RNA ناقل را با کدون‌های RNA پیک در حین سنتز پروتئین تسهیل می‌نمایند. یک ریبوزوم به اندازه‌ای بزرگ است که می‌تواند با میکروسکوپ الکترونی دیده شود و از دو زیرواحد با نام زیرواحد کوچک و بزرگ تشکیل شده است (**شکل ۱۷- ۱۷**). زیرواحدهای ریبوزومی، از پروتئین‌ها و مولکول‌های RNA با نام **RNA ریبوزومی**[2] یا **rRNA** تشکیل شده‌اند. در یوکاریوت‌ها، زیرواحدها در هستک ساخته می‌شوند. ژن‌های RNA ریبوزومی در DNA کروموزومی، رونویسی شده، سپس RNA پردازش گردیده و با پروتئین‌های واردشده از سیتوپلاسم سرهم‌بندی می‌شود. زیرواحدهای ریبوزومی حاصل، سپس از طریق منافذ هسته‌ای به سیتوپلاسم صادر می‌گردند. در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها، زیرواحدهای کوچک و بزرگ، تنها زمانی که به یک مولکول RNA پیک اتصال یافته‌اند به یکدیگر چسبیده و تشکیل ریبوزوم فعال می‌دهند. تقریباً $\frac{۲}{۳}$ از جرم یک ریبوزوم را RNA ریبوزومی تشکیل می‌دهد. به‌خاطر آنکه بیشتر سلول‌ها دارای هزاران ریبوزوم هستند، RNA ریبوزومی فراوان‌ترین نوع RNA در سلول است.

با آنکه ریبوزوم‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی از لحاظ ساختار و عملکرد بسیار شبیه هستند، انواع یوکاریوتی اندکی بزرگ‌تر بوده و از نظر اجزای تشکیل‌دهنده با انواع پروکاریوتی نسبتاً متفاوتند. این اختلاف‌ها از جنبهٔ پزشکی مهم به‌شمار می‌آیند. داروهای آنتی‌بیوتیک خاص بدون آنکه از عملکرد ساخت پروتئین توسط ریبوزوم‌های یوکاریوتی جلوگیری نمایند قادر هستند ریبوزوم‌های پروکاریوتی را غیرفعال سازند. این داروها از قبیل تتراسایکلین[3] و استرپتومایسین[4] برای مبارزه با عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

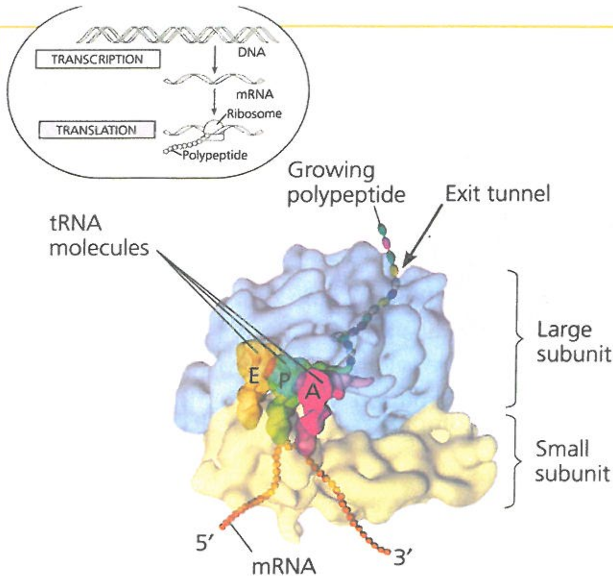


شکل ۱۶- ۱۷ آنزیم آمینوآسیل ـ tRNA سنتتاز، آمینواسید اختصاصی را به مولکول RNA ناقل متصل می‌کند. *اتصال RNA ناقل و آمینواسید یک فرایند انرژی‌خواه است که با مصرف ATP انجام می‌گیرد. مولکول ATP دو گروه فسفات از دست داده و به AMP (آدنوزین مونوفسفات) تبدیل می‌شود.*

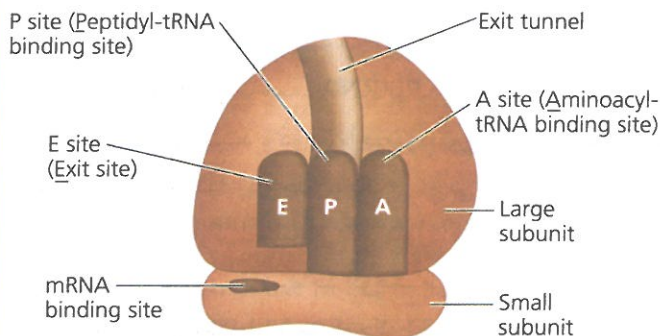
1- Wobble
2- Ribosomal RNA (rRNA)
3- Tetracyclin
4- Streptomycin

ساختار یک ریبوزوم نمایانگر عملکرد آن در گردهم‌آوری RNA پیک، با RNAهای ناقل آمینواسید می‌باشد. هر ریبوزوم علاوه بر جایگاه اتصال برای RNA پیک دارای سه جایگاه اتصال به RNA ناقل نیز می‌باشد (به شکل ۱۷- ۱۷ نگاه کنید). **جایگاه P**[1] (جایگاه پپتید متصل به RNA ناقل)، جایگاه RNA ناقل متصل به رشتهٔ پلی‌پپتیدی درحال رشد است، و **جایگاه A** (جایگاه آمینوآسیل ـ tRNA)، جایگاهی است که RNA ناقل حاوی آمینواسید جدیدی که باید به زنجیره اضافه شود را در خود نگاه می‌دارد. RNA ناقل بدون بار از **جایگاه E** (به نشانهٔ جایگاه خروج یا Exit) ریبوزوم را ترک می‌کند. ریبوزوم، RNA پیک و RNA ناقل را در مجاورت یکدیگر نگاه داشته و آمینواسید جدید را در انتهای کربوکسیلِ رشتهٔ پلی‌پپتیدی در حال رشد قرار می‌دهد. ریبوزوم سپس تشکیل پیوند پپتیدی را کاتالیز می‌نماید. همین‌طورکه پلی‌پپتید بلندتر می‌شود از درون یک **مجرای خروجی** موجود در زیرواحد بزرگ ریبوزومی عبور می‌کند. هنگامی‌که پلی‌پپتید کامل شد، از طریق مجرای خروجی به درون سیتوزول رها خواهد شد.

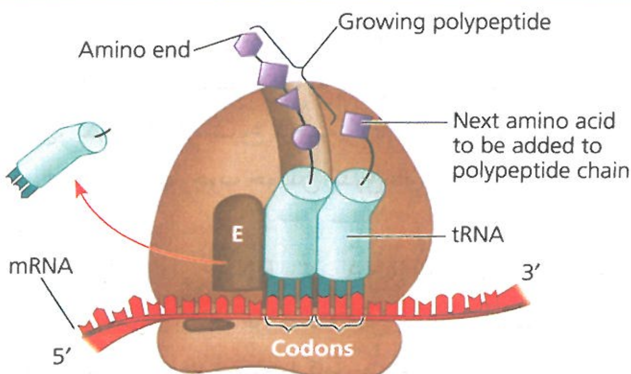
تحقیقات اخیر از این فرضیه که اصولاً RNA ریبوزومی و نه پروتئین، مسئول ساختار و عملکرد ریبوزوم هستند قویاً حمایت می‌کند. پروتئین‌هایی که اغلب در سطوح خارجی ریبوزوم واقع شده‌اند، از تغییرشکل مولکول‌های RNA ریبوزومی حین انجام واکنش‌های ترجمه حمایت می‌نمایند. RNA مهم‌ترین جزء سازندهٔ فضای مابین دو زیرواحد و نیز جایگاه‌های P و A می‌باشد. علاوه براین، RNA تشکیل پیوند پپتیدی را نیز کاتالیز می‌کند، بنابراین می‌توان ریبوزوم را به‌عنوان یک ریبوزیم[2] غول‌آسا در نظر گرفت.



(a) مدل کامپیوتری از یک ریبوزوم عملکردی. این طرح شکل کلی یک ریبوزوم باکتریایی را نشان می‌دهد. ریبوزوم یوکاریوتی تقریباً شبیه به این طرح است. یک زیر واحد ریبوزومی، مجموعه‌ای از مولکول‌های RNAی ریبوزومی و پروتئین‌ها است.



(b) مدل شماتیک نشان دهندهٔ جایگاه‌های اتصال. ریبوزوم دارای یک جایگاه اتصال به mRNA و سه جایگاه اتصال به tRNA است، که جایگاه‌های A، P و E نامیده می‌شوند. این طرحواره ریبوزوم شماتیک در دیاگرام‌های بعدی دیده خواهد شد.



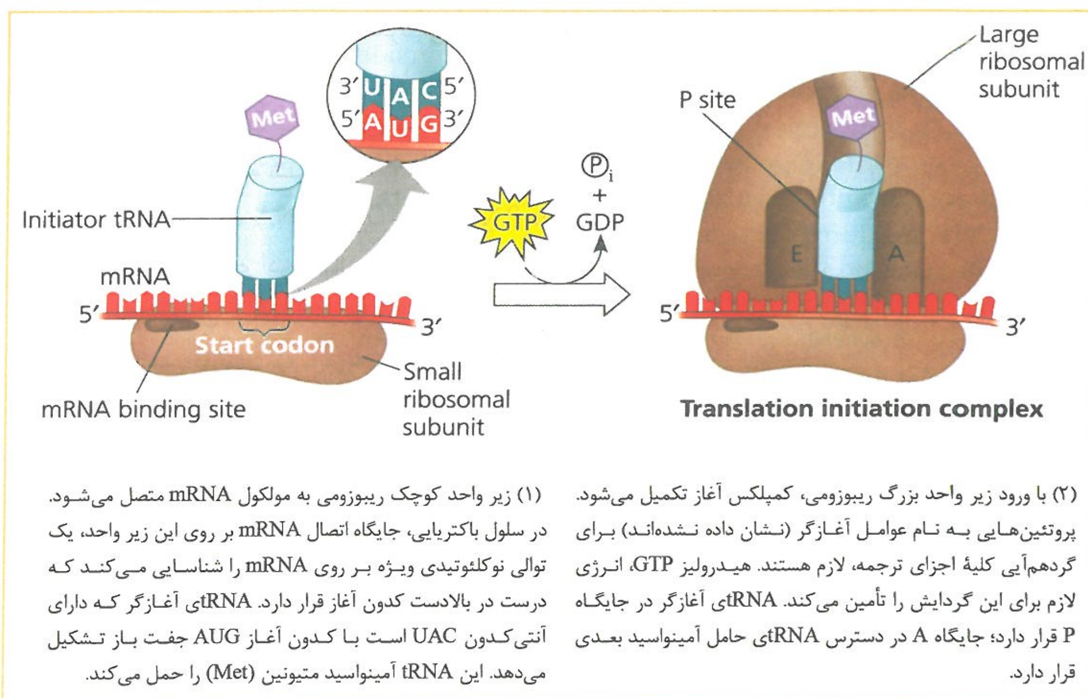
(c) یک مدل شماتیک با mRNA و tRNA. هنگامی که آنتی‌کدون tRNA باکدون mRNA، جفت باز تشکیل می‌دهد، tRNA در یک جایگاه اتصال قرار می‌گیرد. جایگاه P، tRNAای متصل به پلی‌پپتید در حال رشد را نگه می‌دارد. جایگاه A، tRNAی حامل آمینواسید بعدی را نگه می‌دارد که قرار است به زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی افزوده شود. tRNAی بدون بار از جایگاه E خارج می‌شود.

◀ شکل ۱۷- ۱۷ **ساختار ریبوزوم فعال.**

ساخت یک پلی‌پپتید

ما می‌توانیم ترجمه یعنی سنتز رشتهٔ پلی‌پپتیدی را به سه مرحله تقسیم‌بندی کنیم (مشابه رونویسی): آغاز، ادامه و پایان. هر سه مرحله نیاز به «عوامل» پروتئینی دارد که RNA پیک، RNA ناقل و ریبوزوم را در فرایند ترجمه یاری می‌کنند. در مراحل خاصی از آغاز ساخت زنجیره و طویل شدن آن به انرژی نیاز است. این انرژی با هیدرولیز GTP (گوانوزین تری‌فسفات)[3]، مولکول مشابه ATP، مهیا می‌شود.

1- P site
2- Ribozyme
3- Guanosine triphosphate



(۱) زیر واحد کوچک ریبوزومی به مولکول mRNA متصل می‌شود. در سلول باکتریایی، جایگاه اتصال mRNA بر روی این زیر واحد، یک توالی نوکلئوتیدی ویژه بر روی mRNA را شناسایی می‌کند که درست در بالادست کدون آغاز قرار دارد. tRNAی آغازگر که دارای آنتی‌کدون UAC است با کدون آغاز AUG جفت باز تشکیل می‌دهد. این tRNA آمینواسید متیونین (Met) را حمل می‌کند.

(۲) با ورود زیر واحد بزرگ ریبوزومی، کمپلکس آغاز تکمیل می‌شود. پروتئین‌هایی به نام عوامل آغازگر (نشان داده نشده‌اند) برای گردهم‌آیی کلیهٔ اجزای ترجمه، لازم هستند. هیدرولیز GTP، انرژی لازم برای این گردایش را تأمین می‌کند. tRNAی آغازگر در جایگاه P قرار دارد؛ جایگاه A در دسترس tRNAی حامل آمینواسید بعدی قرار دارد.

شکل ۱۸- ۱۷ آغاز ترجمه.

اتصال ریبوزوم و آغاز ترجمه

در مرحلهٔ آغازین ترجمه، RNA پیک، RNA ناقل حاوی اولین آمینواسید پلی‌پپتید و دو زیرواحد ریبوزوم گردهم می‌آیند **(شکل ۱۸-۱۷)**. ابتدا زیرواحد کوچک ریبوزومی به RNA پیک و نیز به RNA ناقل آغازگر اختصاصی که حامل آمینواسید متیونین است می‌چسبد. در باکتری‌ها، زیرواحد کوچک می‌تواند به این دو، در هر دو ترتیب متصل شود. زیرواحد کوچک ریبوزوم دقیقاً در بالادست کدون آغاز AUG، به توالی خاصی از RNA پیک متصل می‌شود. در یوکاریوت‌ها، زیرواحد کوچک درحالی‌که قبلاً با RNA ناقل آغازگر جفت شده است، به سر ′۵ RNA پیک متصل می‌شود و در طول RNA پیک تا زمانی‌که به کدون آغازگر برسد و RNA ناقل با آن پیوند هیدروژنی تشکیل دهد، به پایین‌دست حرکت می‌کند. در هر حال، کدون آغازگر، شروع ترجمه را علامت می‌دهد؛ این مسئله مهمی است زیرا چهارچوب خواندن کدون‌های RNA پیک را تعیین می‌نماید.

به دنبال گردهمایی RNA پیک، RNA ناقل آغازگر و زیرواحد کوچک ریبوزومی، زیرواحد بزرگ به این ساختار اتصال یافته و مجموعه *(کمپلکس) آغاز ترجمه* را کامل می‌نماید. پروتئین‌هایی با نام *عوامل آغازگر*[1] برای اجتماع همهٔ این اجزاء به دور یکدیگر ضروری هستند. همچنین سلول مقداری انرژی را به‌صورت مولکول GTP برای تشکیل کمپلکس آغاز ترجمه مصرف می‌کند. به‌دنبال کامل شدن فرایند آغاز، RNA ناقل آغازگر در جایگاه P ریبوزوم قرار گرفته و جایگاه A خالی برای دریافت tRNA ـ آمینواسیل بعدی مهیا می‌شود. توجه داشته باشید که همواره پلی‌پپتید در یک جهت و از طرف اولین متیونین در انتهای آمینی که N– ترمینال نیز گفته می‌شود به سمت آخرین آمینواسید در انتهای کربوکسی که انتهای C– ترمینال نیز نامیده می‌شود، ساخته می‌شود (شکل ۱۷- ۵ را ببینید).

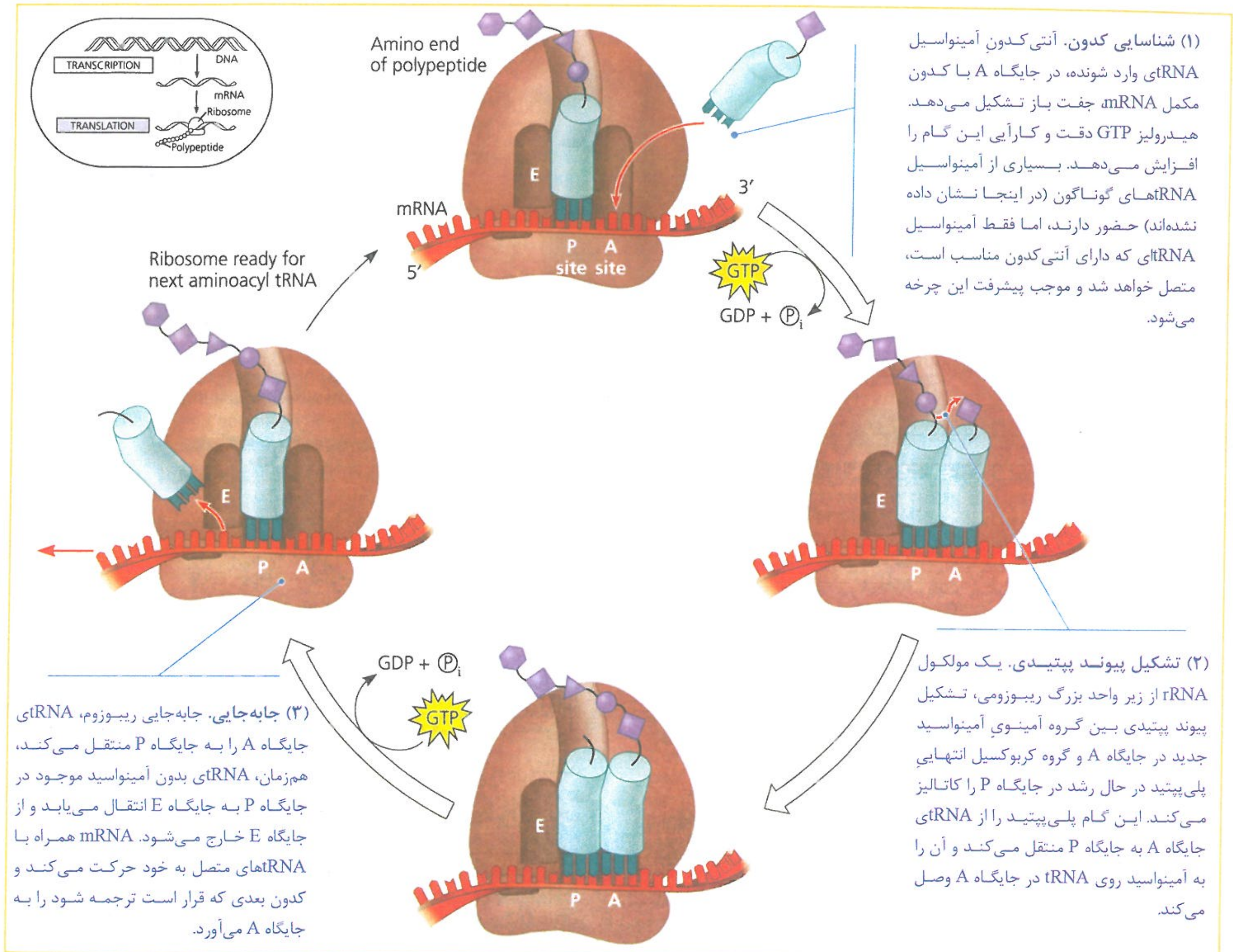
طویل شدن[2] رشتهٔ پلی‌پپتیدی

طی مرحلهٔ طویل شدن در ترجمه، آمینو اسیدها یکی‌یکی به آمینواسید قبلی اضافه می‌شوند. در هر مرحلهٔ اضافه شدن، چندین پروتئین به‌نام *عوامل طویل‌سازی* شرکت کرده و این فرایند به‌صورت یک چرخهٔ سه‌مرحله‌ای که در **شکل ۱۹-۱۷** تشریح شده، اتفاق می‌افتد. در مرحلهٔ اول و سوم این چرخه، انرژی مصرف می‌شود. شناسایی کدون به هیدرولیز یک مولکول GTP نیاز دارد که این امر صحت و کارایی این مرحله را افزایش می‌دهد. یک GTP دیگر نیز برای فراهم نمودن انرژی مرحلهٔ جابه‌جایی، هیدرولیز می‌شود.

RNA پیک تنها در یک جهت و از انتهای′۵ از میان ریبوزوم می‌گذرد. این حرکت با جهت حرکت′۳ ← ′۵ ریبوزوم برروی RNA پیک معادل است. نکتهٔ مهم این است که ریبوزوم و RNA پیک نسبت به یکدیگر در یک جهت یکسان و کدون به کدون حرکت می‌کنند. چرخهٔ طویل‌شدن در پروکاریوت‌ها در مدت کمتر از ۰/۱ ثانیه انجام گرفته و برای هر آمینواسید تکرار می‌شود تا آنکه پلی‌پپتید کامل شود.

1- Initiation factors

2- Elongation



◀ شکل ۱۹-۱۷ **چرخهٔ طویل شدن در ترجمه.** *هیدرولیز مولکول GTP نقش مهمی را در فرایند طویل‌سازی ایفا می‌کند. در این تصویر، پروتئین‌هایی به نام عوامل طویل‌سازی نشان داده نشده‌اند.*

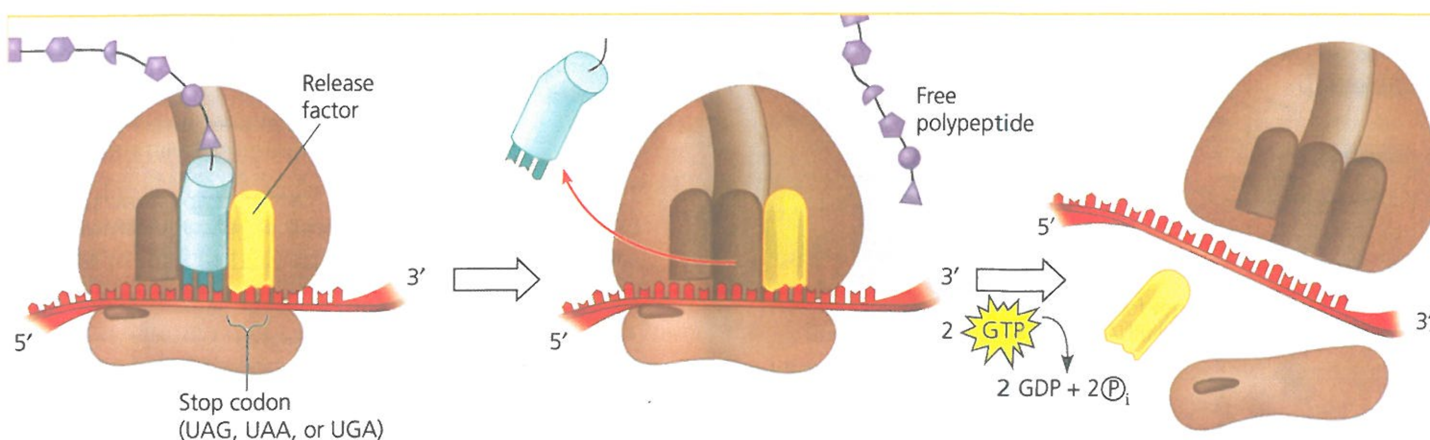
پایان[1] ترجمه

آخرین مرحلهٔ ترجمه، پایان است (**شکل ۲۰-۱۷**). طویل‌شدن تا زمانی‌که یک کدون پایان در RNA پیک به جایگاه A ریبوزوم برسد، ادامه می‌یابد. توالی سه‌تایی UAG، UAA و UGA به جای آنکه آمینواسیدی را رمز کنند، به‌عنوان علائم توقف ترجمه عمل می‌کنند. یک پروتئین با نام عامل رهاسازی[2] مستقیماً به کدون پایان در جایگاه A متصل می‌شود. عامل رهاسازی سبب اضافه‌شدن یک مولکول آب به جای یک آمینواسید به رشتهٔ پلی‌پپتیدی خواهد شد. این واکنش، پیوند پلی‌پپتید کامل شده را با RNA ناقل در جایگاه P هیدرولیز کرده، منجر به رها شدن پلی‌پپتید از طریق مجرای خروجی زیرواحد بزرگ ریبوزومی می‌شود. بقایای مجموعهٔ درحال ترجمه در مرحلهٔ بعد در یک فرایند چند مرحله‌ای که با سایر عوامل پروتئینی تسهیل می‌شود، ازهم جدا می‌شوند. شکسته شدن مجموعهٔ در حال ترجمه به هیدرولیز شدن دو مولکول GTP دیگر نیاز دارد.

پلی‌ریبوزوم[3]

یک ریبوزوم منفرد قادر است یک پلی‌پپتید با اندازهٔ متوسط را در زمانی کمتر از یک دقیقه بسازد. اما، به‌طور معمول ریبوزوم‌های

1- Termination
2- Release factor
3- Polyribosome



(۱) هنگامی که ریبوزوم به کدون پایان روی mRNA می‌رسد، یک پروتئین شبیه به tRNA به‌نام عامل رها سازی، به جای آمینواسیل tRNA در جایگاه A قرار می‌گیرد.

(۲) عامل رها سازی هیدرولیز پیوند بین tRNAی موجود در جایگاه P و آخرین آمینواسید پلی‌پپتید را پیش می‌برد، بنابراین پلی‌پپتید از ریبوزوم آزاد می‌شود.

(۳) دو زیر واحد ریبوزومی و سایر اجزای مجموعه، از هم جدا می‌شوند.

◀ شکل ۲۰- ۱۷ **پایان ترجمه.** *همانند مرحلهٔ طویل‌سازی، پایان ترجمه به هیدرولیز GTP و نیز عوامل پروتئینی دیگری نیاز دارد که در اینجا نشان داده نشده‌اند.*

متعددی به طور همزمان یک mRNA را ترجمه می‌کنند؛ یعنی از هر RNA پیک منفرد به‌طور همزمان، تعداد زیادی پلی‌پپتید یکسان ساخته می‌شود. زمانی‌که یک ریبوزوم از کدون آغازین RNA می‌گذرد، دومین ریبوزوم می‌تواند به RNA پیک متصل شده و بنابراین شماری از ریبوزوم‌ها می‌توانند به‌دنبال هم برروی RNA پیک ردیف شوند. چنین زنجیره‌ای از ریبوزوم‌ها که با میکروسکوپ الکترونی قابل دیدن است. را **پلی‌ریبوزوم** (یا **پلی‌زوم**[1]) می‌نامند (**شکل ۲۱-۱۷**). پلی‌ریبوزوم‌ها در هر دو نوع سلول یوکاریوتی و پروکاریوتی مشاهده شده‌اند. آنها یک سلول را قادر می‌سازند که کپی‌های زیادی از یک پلی‌پپتید را به‌سرعت تولید نمایند.

تکمیل و هدف‌گیری[2] پروتئین فعال

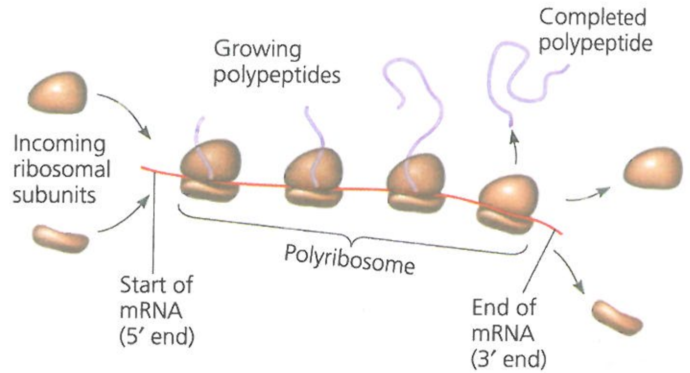
اغلب، فرایند ترجمه برای تولید یک پروتئین فعال کافی نیست. در این قسمت دربارهٔ تغییراتی که برروی رشته‌های پلی‌پپتیدی بعد از فرایند ترجمه اعمال می‌شود و نیز مکانیسم‌هایی که برای هدف‌گیری پروتئین‌های کامل در یک مکان خاص در سلول به‌کار گرفته می‌شود خواهیم آموخت.

تاخوردگی[3] پروتئین و تغییرات پس از ترجمه

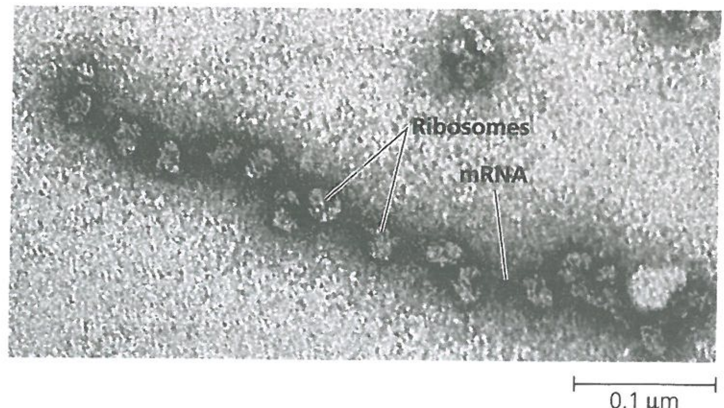
رشتهٔ پلی‌پپتیدی در حین ساخته شدن، با توجه به توالی آمینواسیدیِ خود (ساختار اول)، خودبه‌خود پیچ و تاب خورده و تشکیل یک پروتئین فعال با شکل خاص سه بعدی با ساختار دوم و سوم می‌دهد (به شکل ۲۱-۵ نگاه کنید). در واقع، ژن ساختار اول را تعیین می‌کند و ساختار اول نیز در عوض، شکل را مشخص می‌نماید. در بسیاری از موارد، یک پروتئین چاپرون (چاپرونین[4]) به تاخوردگی درست پلی‌پپتید کمک می‌کند (به شکل ۲۳- ۵ نگاه کنید).

مراحل دیگری (*تغییرات پس از ترجمه*) ممکن است قبل از آنکه پروتئین بتواند نقش خاص خود را در سلول ایفا کند، نیاز باشد. آمینو اسیدهای خاصی با اتصال قندها، لیپیدها، گروه‌های فسفات یا دیگر ترکیبات به‌طور شیمیایی تغییر می‌یابند. گاهی آنزیم‌ها یک یا چند آمینواسید را از انتهای آمینیِ رشتهٔ پلی‌پپتیدی حذف می‌کنند. در بعضی موارد، ممکن است یک رشتهٔ پلی‌پپتیدی منفرد با واکنش آنزیمی به دو یا چند قطعه بریده شود. برای مثال، پروتئین انسولین ابتدا به شکل یک رشتهٔ پلی‌پپتیدی منفرد ساخته شده ولی تنها در صورتی فعال می‌شود که یک آنزیم قسمت مرکزی رشته را بریده و یک پروتئین جدید با دو رشتهٔ پلی‌پپتیدی که با پیوند

1- Polysome
2- Targeting
3- Floding
4- Chaperonin



(a) معمولاً یک مولکول mRNA به طور هم‌زمان توسط چندین ریبوزوم در مجموعه‌هایی به‌نام پلی‌ریبوزوم‌ها ترجمه می‌شود.



(b) این میکروگراف یک پلی‌ریبوزوم بزرگ را در یک سلول باکتریایی نشان می‌دهد. پلی‌پپتیدهای در حال رشد در اینجا قابل مشاهده نیستند (TEM).

▶ شکل ۲۱- ۱۷ **پلی‌ریبوزوم‌ها.**

دی‌سولفیدی متصل شده‌اند، حاصل گردد. در موارد دیگری دو یا چند پلی‌پپتید که به‌صورت جدا ساخته شده‌اند به‌هم وصل شده و زیرواحدهای یک پروتئین با ساختار چهارم را تشکیل می‌دهند. یک مثال آشنا هموگلوبین است (شکل ۲۰-۵ را ببینید).

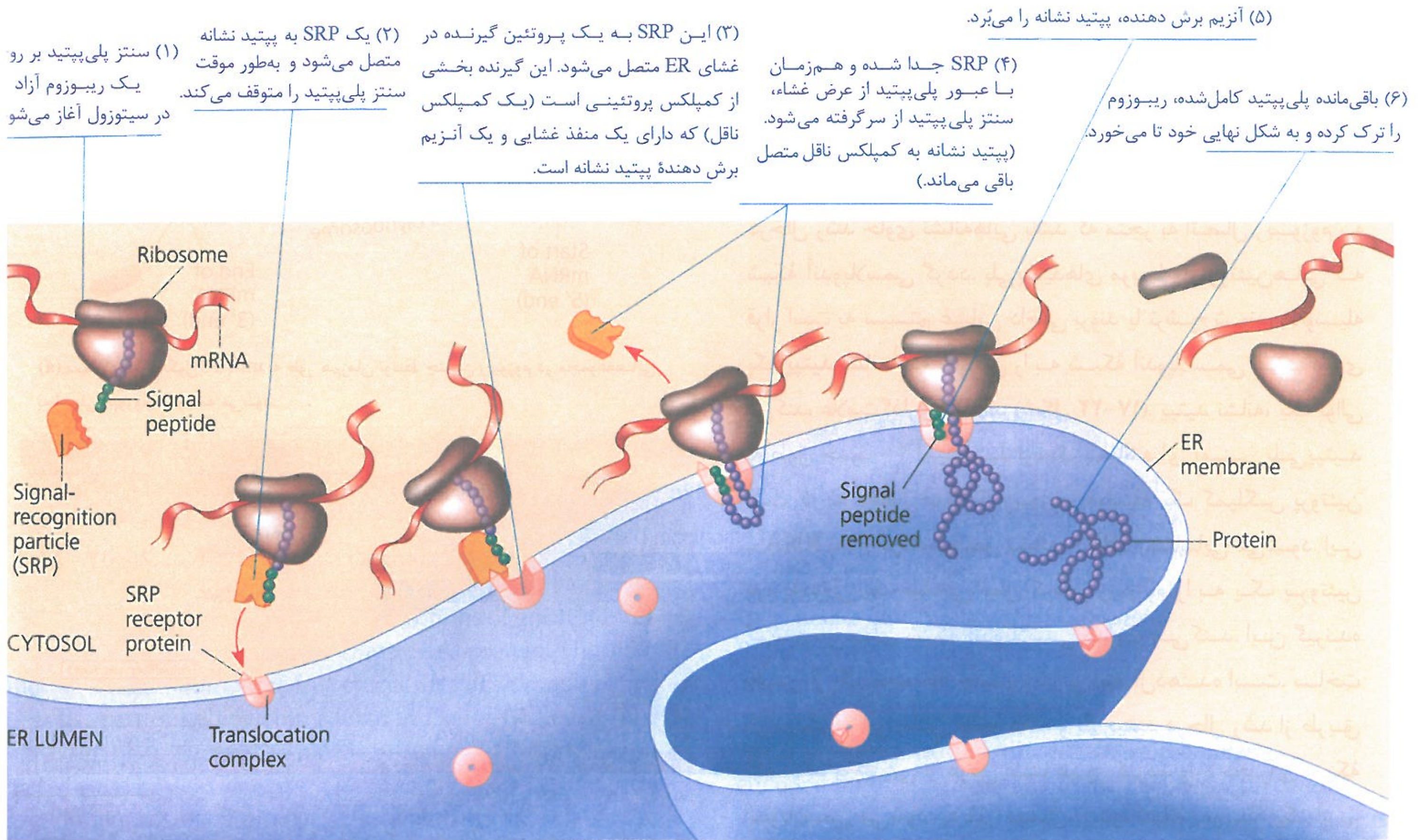
هدف‌گیری پلی‌پپتید به یک مکان اختصاصی

در ریزنگارهای الکترونیِ سلول‌های یوکاریوتیِ فعال در ساخت پروتئین، دو گروه ریبوزوم (و پلی‌ریبوزوم) یافت می‌شود: انواع آزاد و متصل (به شکل ۱۰-۶ نگاه کنید). ریبوزوم‌های آزاد در سیتوزول معلق هستند و اکثراً ساخت پروتئین‌هایی که در سیتوزول می‌مانند و همان جا نیز فعالیت می‌کنند را به انجام می‌رسانند. برخلاف آن، ریبوزوم‌های متصل به سمت سیتوزولیِ شبکهٔ آندوپلاسمی یا غشای هسته هستند. ریبوزوم‌های متصل، پروتئین‌های دستگاه غشاییِ درونی سلول (غشای هسته، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی، لیزوزوم، واکوئل و غشای پلاسمایی) و نیز پروتئین‌های ترشحی از سلول مانند انسولین را می‌سازند. ریبوزوم‌ها در هر دو حالت ماهیت یکسانی دارند و قادرند وضعیت‌شان را به هر دو نوع حالت تغییر دهند.

چه چیزی تعیین می‌کند که در زمان خاص یک ریبوزوم در سیتوزول آزاد یا به شبکهٔ آندوپلاسمی زبر متصل باقی بماند؟ ساخت پلی‌پپتید همواره در سیتوزول آغاز می‌شود، یعنی زمانی‌که یک ریبوزوم آزاد، ترجمهٔ یک مولکول RNA پیک را آغاز می‌کند. این فرایند تا زمان تکمیل ساخت پلی‌پپتید ادامه می‌یابد مگر آنکه رشتهٔ درحال رشد حاوی نشانه‌هایی باشد که منجر به اتصال ریبوزوم به شبکهٔ آندوپلاسمی گردد. پلی‌پپتیدهای مربوط به پروتئین‌هایی که قرار است به سیستم غشایی داخلی بروند یا ترشح شوند، به‌وسیله یک **پپتید نشانه**[1] که پروتئین را به شبکهٔ آندوپلاسمی هدف‌گیری می‌کند، علامت‌گذاری شده‌اند (**شکل ۲۲-۱۷**). پپتید نشانه، یک توالی به طول حدود ۲۰ آمینواسید نزدیک به انتهای آمینی پلی‌پپتید است که به محض خروج از ریبوزوم به‌وسیله یک کمپلکس پروتئین ـ RNA به‌نام **ذرهٔ تشخیص نشانه**[2] **(SRP)** شناسایی می‌شود. این ذره به‌عنوان یک میانجی عمل کرده و ریبوزوم را به یک پروتئین گیرنده در غشای شبکهٔ آندوپلاسمی هدایت می‌کند. این گیرنده بخشی از یک مجموعهٔ چندپروتئینیِ انتقال‌دهنده است. ساخت پلی‌پپتید در این مکان ادامه یافته و پلی‌پپتید درحال رشد از طریق یک منفذ پروتئینی از عرض غشا عبور کرده، وارد مجرای شبکهٔ آندوپلاسمی می‌شود. به‌طور معمول، پپتید نشانه به‌وسیله یک آنزیم حذف می‌شود. باقی‌ماندهٔ پلی‌پپتید کامل درصورتی‌که پروتئین ترشحی باشد به درون مجرای شبکهٔ آندوپلاسمی رها می‌شود (همانند شکل ۲۲-۱۷). اما اگر پلی‌پپتید یک پروتئین غشایی باشد، در بستر غشای شبکهٔ آندوپلاسمی باقی می‌ماند.

انواع دیگری از پپتیدهای نشانه نیز برای هدف‌گیری پلی‌پپتید به میتوکندری، کلروپلاست، درون هسته و دیگر اندامک‌هایی که جزء دستگاه غشاهای درونی نیستند، استفاده می‌شود. تفاوت اساسی در این موارد این است که پیش از آنکه پلی‌پپتید به سمت اندامک منتقل شود، در سیتوزول کامل می‌گردد. مکانیسم‌های انتقال نیز متنوع هستند اما در اکثر مواردی که تاکنون مطالعه شده، کدهای پستی که پروتئین‌ها را برای ترشح یا جایگزینی در مکان‌های خاص هدایت می‌کنند، تنها چند گونه پپتید نشانه هستند. پروکاریوت‌ها نیز از توالی‌های نشانه برای ترشح پروتئین‌ها استفاده می‌کنند.

1- Signal peptide
2- Signal-recognition particle



شکل ۲۲-۱۷ مکانیسم پپتید نشانه برای هدف‌گیری پروتئین‌ها به شبکهٔ آندوپلاسمی. *پلی‌پپتیدی که قرار است به سیستم غشاهای داخلی وارد شود یا ترشح گردد، با یک پپتید نشانه آغاز می‌گردد. این پپتید مجموعه‌ای از آمینواسیدها است که پلی‌پپتید را برروی شبکهٔ آندوپلاسمی هدف‌گیری می‌کند. این شکل، تولید یک پروتئین ترشحی و انتقال هم‌زمان آن به‌درون شبکهٔ آندوپلاسمی را نشان می‌دهد. پروتئین ابتدا در شبکهٔ آندوپلاسمی و سپس در گلژی به میزان بیشتری فرآوری می‌شود. در پایان، یک وزیکول انتقالی این پروتئین را برای رهاسازی از سلول به غشای پلاسمایی منتقل می‌کند (به شکل ۱۲-۷ توجه کنید).*

پرسش‌های مبحث ۴-۱۷

۱. دو فرایند که سبب اطمینان از اضافه شدن آمینواسید صحیح در رشتهٔ پلی‌پپتیدی درحال رشد می‌گردند را نام ببرید.

۲. ساختار rRNA احتمالاً به چه طریقی در عملکرد ریبوزوم نقش دارد؟ بحث کنید.

۳. توضیح دهید پلی‌پپتیدی که قرار است ترشح شود، چگونه وارد سیستم غشایی درونی می‌شود.

۴. **چه می‌شد اگر؟** **رسم کنید.** اگر tRNA دارای آنتی‌کدون $3'-CGU-5'$ باشد، به کدام دو کدون متفاوت می‌تواند وصل شود؟ هر یک از این کدون‌ها را بر روی mRNA رسم کنید، انتهاهای $5'$ و $3'$ را مشخص کنید. آمینواسیدی که توسط این tRNA حمل می‌شود را اضافه کنید.

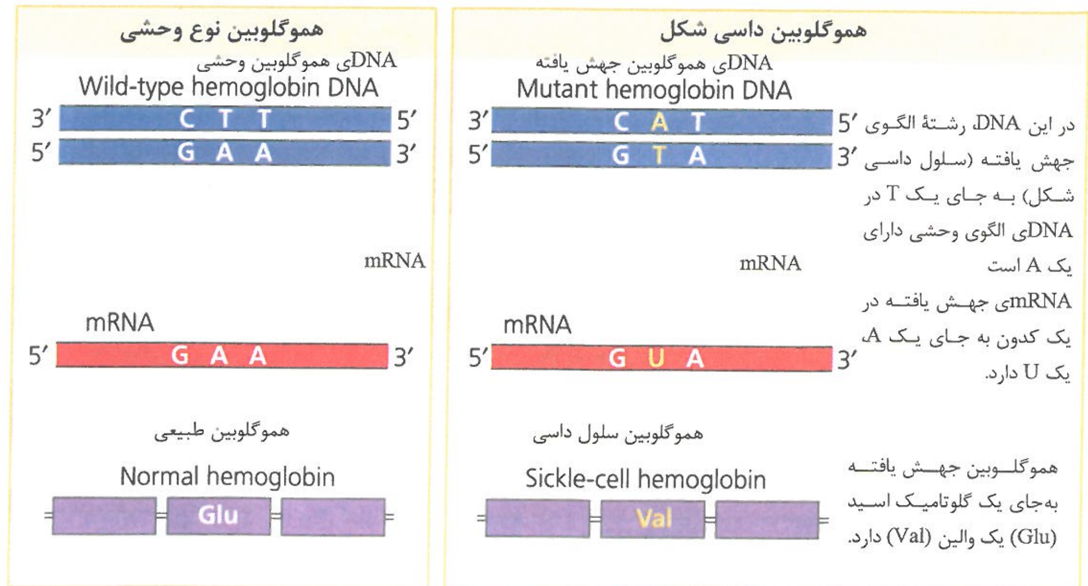
برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۵-۱۷ جهش در یک یا چند نوکلئوتید می‌تواند عملکرد و ساختار پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد

حال که چگونگی بیان ژن را آموختید آماده‌اید تا تأثیر تغییرات روی اطلاعات ژنتیکی سلول (یا ویروس) را درک کنید. این تغییرات که **جهش** نامیده می‌شوند، مسئول تنوع عظیم ژن‌های موجودات زنده هستند. این جهش‌ها منبع نهایی ژن‌های جدید هستند. در شکل ۱۴-۱۵، جهش‌های بزرگ‌مقیاس، مثل بازآرایی کروموزومی که قطعهٔ بزرگی از DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهد، نشان داده‌ایم. اکنون به بررسی جهش‌های کوچک‌مقیاسِ یک یا چند جفت نوکلئوتیدی، از جملهٔ **جهش‌های نقطه‌ای**[1] یعنی تغییرات در یک جفت نوکلئوتید از ژن می‌پردازیم.

1- Point mutations

شکل ۲۳-۱۷ **اساس مولکولی بیماری کم‌خونی داسی‌شکل: یک جهش نقطه‌ای.** *اللی که بیماری آنمی داسی‌شکل را ایجاد می‌کند در یک جفت‌باز با الل نرمال متفاوت است.*



اگر جهش نقطه‌ای در سلول زاینده یا در سلولی که به سلول زاینده تبدیل خواهد شد، رخ دهد ممکن است به فرزندان و نسل‌های متوالی آینده منتقل گردد. اگر جهش تأثیر بدی برروی فنوتیپ جاندار داشته باشد، به آن فنوتیپ، نارسایی ژنتیکی یا بیماری موروثی اطلاق می‌شود. به‌عنوان مثال، می‌توان علت ژنتیکی بیماری سلول داسی‌شکل را به یک جهش تک‌نوکلئوتیدی در ژن رمزکنندهٔ یکی از پلی‌پپتیدهای هموگلوبین نسبت داد. تغییر در یک نوکلئوتید منفرد در رشتهٔ الگوی DNA، منجر به تولید پروتئینی غیرطبیعی خواهد شد (**شکل ۲۳-۱۷**، به شکل ۲۱-۵ نیز نگاه کنید). در افراد هوموزیگوس برای الل جهش‌یافته، داسی شکل شدن گلبول‌های قرمز ناشی از تغییر هموگلوبین، علائم گوناگونی را ایجاد می‌کند (فصل ۱۴ را ببینید). بیماری دیگری که توسط یک جهش نقطه‌ای ایجاد می‌شود، یک عارضهٔ قلبی به نام کاردیومیوپاتی خانوادگی است، که سبب مرگ ناگهانی در ورزشکاران جوان می‌شود. جهش‌های نقطه‌ای در تعداد زیادی از ژن‌ها تشخیص داده شده‌اند که هر یک می‌توانند منجر به این اختلال شوند.

انواع جهش‌های نقطه‌ای

حال بیایید چگونگی تأثیر جهش‌های کوچک‌مقیاس بر روی پروتئین‌ها را بررسی کنیم. جهش‌های نقطه‌ای در درون یک ژن را می‌توان به دو گروه کلی تقسیم کرد: (۱) جانشینی جفت نوکلئوتید منفرد و (۲) حذف یا اضافه شدن جفت نوکلئوتیدی. جهش‌های حذف و اضافه می‌توانند شامل یک یا تعداد بیشتری جفت نوکلئوتید باشند.

جانشینی‌ها[1]

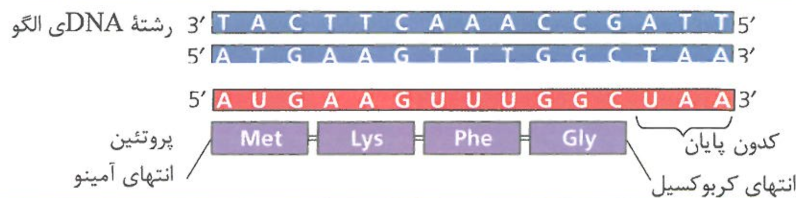
جهش **جانشینی جفت نوکلئوتیدی** عبارت از جای گرفتن یک نوکلئوتید و جفت آن به‌جای یک جفت نوکلئوتید دیگر می‌باشد (**شکل ۲۴a-۱۷**). بعضی از این جایگزینی‌ها، **جهش‌های خاموش**[2] نامیده می‌شوند، زیرا به‌خاطر هم‌معنی بودن قسمتی از رمزگان ژنتیکی تأثیری برروی پروتئین رمزشده ندارند. به بیان دیگر، گاهی تغییر در یک جفت‌باز، یک کدون را به کدون دیگری تبدیل می‌کند که آن نیز به آمینواسید قبلی ترجمه می‌شود. به‌طورِ مثال، اگر توالی ′۵ - CCG - ′۳ برروی رشتهٔ الگو به ′۵ - CCA - ′۳ جهش پیدا کند، کدون RNA پیک که GGC بوده است به GGU تبدیل می‌شود و در نهایت باز هم گلایسین در جایگاه صحیح در پروتئین وارد خواهد شد (شکل ۵-۱۷ را ببینید). جانشینی‌هایی که یک آمینواسید را به آمینواسید دیگری تبدیل می‌کنند، **جهش‌های بد معنی**[3] نامیده می‌شوند. چنین جهشی ممکن است تأثیر ناچیزی برروی پروتئین بگذارد: آمینواسید جدید در این مورد، ویژگی‌هایی مشابه آمینواسید قبلی را دارد، و یا در ناحیه‌ای از پروتئین واقع شده که توالی دقیق آمینو اسیدها برای فعالیت پروتئینی چندان ضروری نیست.

در هر صورت، جهش‌های جانشینی مهم‌تر آنهایی هستند که سبب یک تغییر قابل تشخیص در پروتئین می‌شوند. مثلاً تغییر یک آمینواسید در ناحیهٔ مهم پروتئین، همانند جایگاه فعال یک آنزیم، فعالیت پروتئین را به‌طور مشخصی تغییر خواهد داد. گاهی چنین جهش‌هایی منجر به بهبود توانایی پروتئین یا ایجاد یک توانایی جدید در پروتئین می‌شوند، اما در اکثر مواقع چنین جهش‌هایی مضر هستند و منجر به کاهش فعالیت یا بی‌استفاده نمودن پروتئین می‌شوند که عملکرد سلولی را نیز معیوب می‌سازند.

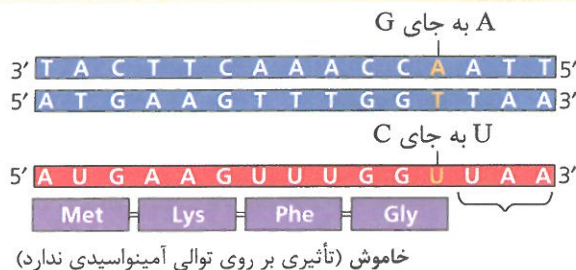
1- Substitutions
2- Silent mutations
3- Missense mutation

◀ شکل ۲۴-۷ **انواع جهش‌های کوچک‌مقیاس که بر روی توالی mRNA تأثیر می‌گذارند.** *تمامی این جهش‌ها به استثنای یکی، بر روی توالی آمینواسیدی پلی‌پپتید کد شده نیز تأثیر می‌گذارند.*

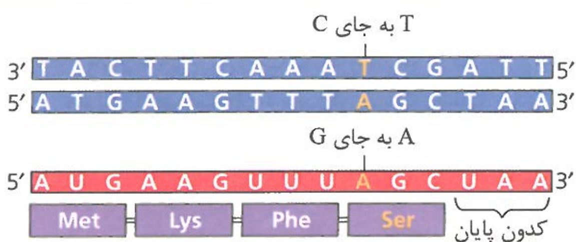
نوع وحشی



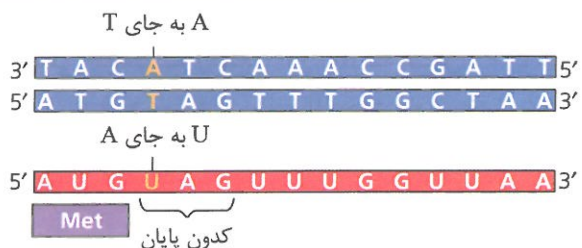
(a) جایگزینی جفت نوکلئوتیدی



خاموش (تأثیری بر روی توالی آمینواسیدی ندارد)

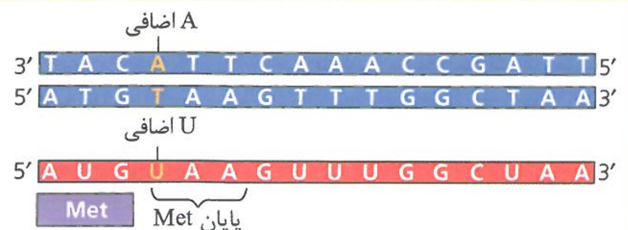


بد معنی

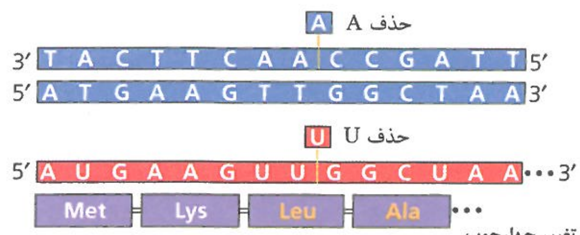


بی معنی

(b) حذف یا اضافه شدن جفت نوکلئوتید



تغییر چهارچوب (اضافه شدن یک جفت نوکلئوتید) کدون بی‌معنی زودرس به‌وجود می‌آورد



تغییر چهارچوب (حذف یک جفت نوکلئوتید)
جهش بد معنی شدید ایجاد می‌کند



تغییر چهارچوبی رخ نمی‌دهد، اما یک آمینواسید حذف می‌شود **(حذف سه جفت نوکلئوتید).** اضافه شدن ۳ جفت نوکلئوتید (نشان داده نشده است) منجر به افزوده شدن یک آمینواسید می‌شود.

معمولاً جهش‌های جایگزینی، جهش‌های بدمعنی هستند به این معنی‌که کدون تغییریافته هنوز می‌تواند یک آمینواسید را مشخص کرده و بنابراین یک پیام بسازد، گرچه لزوماً این پیام ژنتیکی درست نباشد. اما جهش نقطه‌ای می‌تواند کدون یک آمینواسید را به کدون پایان مبدل سازد. چنین جهشی، **جهش بی‌معنی**[1] نامیده می‌شود که سبب پایان زودرس ترجمه شده و درنتیجه، یک پلی‌پپتید کوتاه‌تر از نوعی که توسط ژن طبیعی رمز شده، تولید می‌گردد. تقریباً تمام جهش‌های بی‌معنی سبب تولید پروتئین‌های غیرفعال می‌شوند.

حذف و اضافه

جهش‌های **حذف** یا **اضافه**، شامل از دست دادن یا ورود جفت نوکلئوتیدها در یک ژن می‌باشند (**شکل ۲۴b-۱۷**). این جهش‌ه

1- Nonsense mutation

نسبت به جهش‌های جایگزینی اغلب اثرات فاجعه‌آمیزی در پروتئین تولیدشده دارند. به‌دلیل آنکه RNA پیک در حین ترجمه به‌صورت مجموعه‌ای از بازهای سه‌تایی خوانده می‌شود، حذف یا اضافه شدن نوکلئوتیدها، چهارچوب خواندن (دسته‌بندی سه‌تایی بازها) پیام ژنتیکی را تغییر می‌دهد. این‌چنین جهشی، **جهش تغییر چهارچوب** نامیده شده و هنگامی‌که تعداد نوکلئوتیدهای اضافه یا حذف شده مضربی از ۳ نباشد، به وقوع می‌پیوندد. همهٔ نوکلئوتیدهایی که در فرودست جایگاه حذف یا اضافه قرار گرفته‌اند، به‌صورت دسته‌بندی نادرستی از کدون‌ها در آمده و در نتیجه، جهش‌های بدمعنی وسیعی رخ داده که معمولاً سبب پایان زودرس می‌گردند. این نوع جهش‌ها اغلب منجر به تولید پروتئین‌های غیرفعال می‌شوند مگر آنکه تغییر چهارچوب، نزدیک به انتهای ژن واقع شود.

عوامل جهش‌زا

جهش‌ها از راه‌های متفاوتی حاصل می‌شوند. خطاهای در حین همانندسازی DNA یا نوترکیبی می‌توانند منجر به جهش‌های جایگزینی، حذف یا اضافه و نیز جهش‌هایی که نواحی بیشتری از DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهند، گردند. برای مثال اگر یک باز اشتباه به یک زنجیرهٔ درحال رشد طی همانندسازی اضافه شود، آن باز با باز موجود در زنجیرهٔ مقابل جفت نخواهد شد. در بسیاری از موارد، این اشتباهات با مکانیسم‌هایی که در فصل ۱۶ آموختید اصلاح می‌شوند وگرنه باز اشتباه در دور بعدی همانندسازی، به‌عنوان الگو استفاده می‌شود و منجر به یک جهش خواهد شد. جهش‌های حاصل از چنین اشتباهاتی، *جهش‌های خودبه‌خودی* خوانده می‌شوند. به سختی می‌توان میزان بروز جهش را در چنین مواردی محاسبه نمود. در هر صورت، ارزیابی تقریبی از میزان جهش در حین همانندسازی DNA برای باکتری *E. coli* و یوکاریوت‌ها انجام گرفته و ارقام مشابهی حاصل گردیده است: به ازای هر 10^{10} نوکلئوتید، یک نوکلئوتید تغییر یافته و به نسل بعدی سلول‌ها منتقل می‌شود.

شماری از عوامل شیمیایی و فیزیکی بانام **عوامل جهش‌زا**[1] با DNA برهمکنش داده، منجر به جهش‌هایی در آن می‌شوند. در دههٔ ۱۹۲۰ هرمان مولر[2] کشف کرد که اشعه X سبب تغییرات ژنتیکی در مگس سرکه می‌شود. وی با بهره‌گیری از اشعهٔ X توانست انواع جهش‌یافته‌ای از *دروزوفیلا* ایجاد کند تا در مطالعات ژنتیکی خود از آنها استفاده کند. او از کشف خود نکتهٔ هشداردهندهٔ دیگری را نیز تشخیص داد. اشعه X و دیگر شکل‌های تشعشعات پرانرژی، همان‌گونه که بر موجودات آزمایشگاهی تأثیر می‌گذارند، مواد ژنتیکی انسان‌ها را نیز در معرض خطراتی قرار می‌دهند. تشعشعات جهش‌زا از انواع جهش‌زای فیزیکی محسوب می‌شوند. یک مثال از این گروه، نور ماورای بنفش است که موجب ایجاد دایمر تیمین[3] در رشتهٔ DNA می‌شود (به شکل ۱۹-۱۶ نگاه کنید).

جهش‌زاهای شیمیایی نیز به چندین دسته تقسیم می‌شوند. شبه بازها[4] عوامل شیمیایی هستند که بسیار شبیه بازهای DNA طبیعی بوده اما در هنگام همانندسازی DNA به‌طور نادرستی با بازهای دیگر جفت می‌شوند. گروه دیگری از جهش‌زاهای شیمیایی از طریق ورود به درون ساختار DNA و درهم ریختن مارپیچ دوتایی آن، در همانندسازی صحیح DNA مداخله می‌کنند. همچنین جهش‌زاهای دیگر منجر به تغییرات شیمیایی در بازها شده و در نتیجه، خصوصیت جفت‌شدن آنها را نیز تغییر می‌دهند.

محققان شیوه‌های پیشرفتهٔ گوناگونی را برای بررسی فعالیت جهش‌زاییِ مواد شیمیایی مختلف، ایجاد کرده‌اند. مهم‌ترین کاربرد این آزمایش‌ها غربالگری مقدماتی مواد شیمیایی برای تعیین عوامل احتمالی ایجاد سرطان است. این راهکار منطقی به‌نظر می‌رسد زیرا بسیاری از عوامل سرطان‌زا (مواد شیمیایی عامل سرطان) جهش‌زا هستند و برعکس بسیاری از جهش‌زاها سرطان‌زا می‌باشند.

پرسش‌های مبحث ۵-۱۷

۱. وقتی‌که یک جفت نوکلئوتید از وسط توالی رمزکنندهٔ ژن حذف می‌شود چه اتفاقی می‌افتد؟

۲. ارتباط دهید افراد هتروزیگوت برای الل سلول داسی، در حالت کلی سالم هستند، اما تحت برخی شرایط آثار فنوتیپی این الل دیده می‌شوند؛ مبحث ۴-۱۴ را ببینید. برحسب بیان ژن توضیح دهید.

۳. چه می‌شد اگر ؟ رشتهٔ الگوی یک ژن حاوی توالی زیر است: ′۳- TACTTGTCCGATATC -′۵ این توالی به ′۳- TACTTGTCCAATATC -′۵ جهش پیدا می‌کند. برای هر دو توالی طبیعی و جهش یافته، DNAی دو رشته‌ای، توالی mRNAی حاصله و توالی آمینواسیدی دو پلی‌پتید را رسم کنید. تأثیر این جهش بر روی توالی آمینواسیدی چیست؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Mutagens
2- Hermann Muller
3- Thymine dimer
4- Base analogs

۶-۱۷ با آن‌که بیان ژن در میان حوزه‌های مختلف حیات متفاوت است، مفهوم ژن جهانی می‌باشد

با وجود آنکه باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها رونویسی و ترجمه را به شکل بسیار مشابهی انجام می‌دهند، ما متوجه تفاوت‌های عمده‌ای در ماشین سلولی و جزئیات مراحل در این دو گروه شده‌ایم. تقسیم‌بندی موجودات زنده به سه قلمرو، ۴۰ سال پیش زمانی که آرکی‌باکتری‌ها در یک دستهٔ جدا از باکتری‌ها قرار گرفتند، ایجاد شد. آرکی‌باکتری‌ها هم مانند باکتری‌ها پروکاریوت هستند. با این‌حال، آرکی‌باکتری‌ها در بسیاری از جنبه‌های مکانیسم بیان ژن با یوکاریوت‌ها اشتراک دارند؛ همچنین تعداد کمی مراحل مشابه با باکتری‌ها نیز دارند.

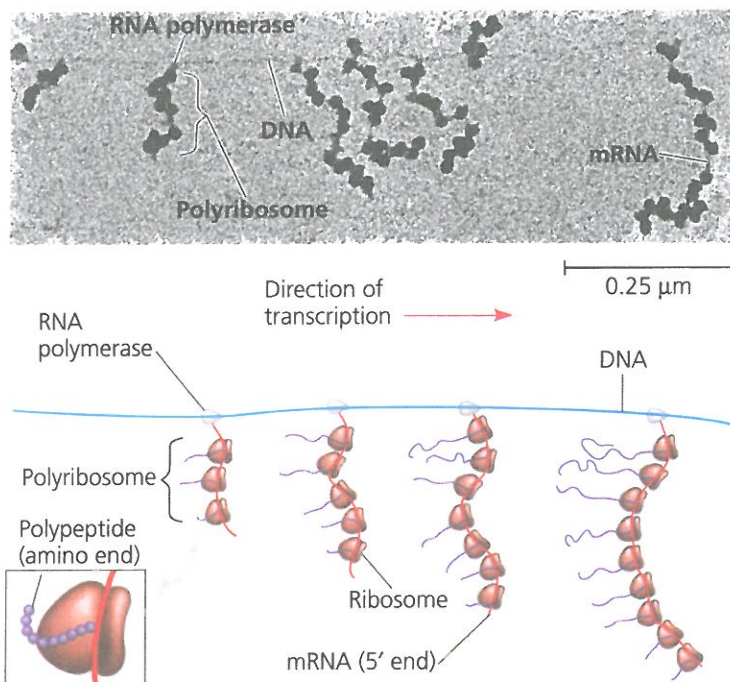
مقایسهٔ بیان ژن در باکتری‌ها، آرکی باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها

پیشرفت‌های اخیر در زیست‌شناسی مولکولی به دانشمندان این امکان را داده است تا توالی نوکلئوتیدی کامل صدها ژنوم شامل ژنوم‌های زیادی از هر سه قلمرو را تعیین کنند. مورد علاقه‌ترین این ژن‌ها آنهایی هستند که اجزای فرایندهای بیولوژیک اساسی مانند رونویسی و ترجمه را رمز می‌کنند.

RNA پلی‌مرازهای باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها کاملاً با یکدیگر متفاوت هستند. برعکس، RNA پلی‌مراز آرکی‌باکتری‌ها مشابه سه RNA پلی‌مراز یوکاریوتی است و آرکی‌باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها، برخلاف باکتری‌ها از عوامل رونویسی پیچیده‌ای استفاده می‌کنند. رونویسی در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها به‌طور متفاوتی پایان می‌یابد. دربارهٔ پایان رونویسی در آرکی‌باکتری‌ها اطلاعات کمی موجود است ولی به نظر می‌رسد بیشتر شبیه مراحل یوکاریوتی باشد.

ریبوزوم‌های باکتریایی و یوکاریوتی، کمی متفاوت هستند. ریبوزوم‌های آرکی‌باکتری‌ها، هم‌اندازهٔ ریبوزوم‌های باکتریایی هستند، اما حساسیت‌شان نسبت به بازدارنده‌های شیمیایی، بیشتر شبیه ریبوزوم‌های یوکاریوتی است. ما قبلاً اشاره کردیم که آغاز ترجمه در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها کمی متفاوت است. از این جنبه، آرکی‌باکتری‌ها بیشتر شبیه باکتری‌ها هستند.

مهم‌ترین تفاوت باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها در زمینهٔ بیان ژن، ناشی از فقدان نسبی ساختمان‌های تقسیم‌بندی‌شده است. مانند یک کارگاه تک‌اتاقه، سلول باکتریایی یک عمل ساده را انجام می‌دهد. با نبود هسته، سلول می‌تواند به‌صورت همزمان یک ژن خاص را رونویسی و ترجمه کند (**شکل ۲۵-۱۷**) و پروتئین تازه ساخته‌شده می‌تواند سریعاً به محل اثرش انتشار پیدا کند. در مورد اینکه مراحل رونویسی و ترجمه در سلول‌های آرکی‌باکتری‌ها مانند باکتری‌ها همزمان انجام می‌شوند اطلاعات اندکی وجود دارد، اما بیشتر محققان گمان می‌کنند این‌گونه است، چون آرکی‌باکتری‌ها پوشش هسته‌ای ندارند. برعکس، در سلول‌های یوکاریوتی پوشش هسته رونویسی و ترجمه را از هم جدا می‌کند و یک تقسیم‌بندی جداگانه برای پردازش دقیق RNA فراهم می‌کند. این پردازش شامل مراحل اضافه‌ای می‌باشد که تنظیم آنها باعث هماهنگی فعالیت سلول‌های یوکاریوتی می‌شود (فصل ۱۸ را ببینید).



◄ **۲۵-۱۷ همزمانی ترجمه و رونویسی در باکتری‌ها.** *در سلول‌های باکتریایی، ترجمهٔ RNA پیک به‌محض آنکه انتهای جلویی (′۵) مولکول RNA پیک از الگوی DNA جدا شود، آغاز خواهد شد. ریزنگار الکترونی گذاره یک رشته از DNAی E. coli را در حین رونویسی توسط مولکول‌های RNA پلی‌مراز نشان می‌دهد. به‌هر مولکول RNA پلی‌مراز، یک RNA پیک در حال رشد چسبیده است که توسط ریبوزوم‌ها در حال ترجمه می‌باشد. پلی‌پپتیدهای نوساز در تصویر میکروسکوپی قابل مشاهده نیستند، اما در نمای پائین نشان داده شده است.*


کدام‌یک از مولکول‌های mRNA، ابتدا رونویسی را آغاز کرده است؟ بر روی آن mRNA کدام ریبوزوم، ابتدا ترجمه را آغاز کرده است؟

کسب اطلاعات بیشتر در مورد پروتئین‌ها و RNAهای درگیر در رونویسی و ترجمهٔ آرکی‌باکتری‌ها به ما اجازه می‌دهد تا در مورد تکامل این مراحل در هر سه قلمرو حیات بیشتر بدانیم. علی‌رغم تفاوت‌هایی که در مورد بیان ژن در اینجا ذکر شد، خود ژن یک مفهوم مشترک در تمام اشکال حیات می‌باشد.

ژن چیست؟ بازگشت به پرسش نخست

در خلال چندین فصل گذشته تعریف ما از ژن به تدریج تغییر یافت، همان‌گونه که در طول تاریخچهٔ ژنتیک نیز این تغییر وجود داشته است. ما ابتدا با مفهوم مندلی ژن به‌عنوان واحد مجزای وراثتی که خصوصیت فنوتیپی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شروع کردیم (فصل ۱۴) و سپس دیدیم که مورگان و همکارانش چنین ژن‌هایی را به نواحی خاصی از کروموزوم‌ها منسوب نمودند (فصل ۱۵). در ادامه، ژن را به‌عنوان ناحیه‌ای از توالی نوکلئوتیدی اختصاصی در طول مولکول DNA در نظر گرفتیم (فصل ۱۶). در انتها، در این فصل تعریف عملکردی از یک ژن، یعنی توالی از DNA که رمزکنندهٔ رشتهٔ پلی‌پپتیدِ خاصی است را مدنظر قرار دادیم. همهٔ این تعاریف و مفاهیم در جای خود سودمند و مفید می‌باشند (در **شکل ۲۶-۱۷** مسیر ژن به پلی‌پپتید در سلول یوکاریوتی به‌طور خلاصه به تصویر کشیده شده است).

واضح است این جمله که یک ژن یک پلی‌پپتید را کد می‌کند، زیادی ساده است. اغلب ژن‌های یوکاریوتی حاوی قطعات غیررمزکننده یعنی اینترون‌ها هستند، به گونه‌ای که بخش بزرگی از این ژن‌ها توالی متناسبی در پلی‌پپتید ندارند. معمولاً زیست‌شناسان مولکولی راه‌اندازها (پروموترها) و نواحی تنظیمی دیگر از DNA را درون محدودهٔ یک ژن قرار می‌دهند. این توالی‌های DNA رونویسی نمی‌شوند، اما به‌عنوان بخشی از ژن عملکردی در نظر گرفته می‌شوند، زیرا وجود آنها برای انجام رونویسی الزامی است. تعریف مولکولی ما از ژن همچنین بایستی به اندازه‌ای گسترده شود که دربرگیرندهٔ قطعاتی از DNA که به RNA ریبوزمی، RNA ناقل و دیگر انواع RNAهای غیرقابل ترجمه رونویسی می‌شوند، نیز باشد. این ژن‌ها هیچ محصول پلی‌پپتیدی ندارند، بنابراین با وجود توضیحات فوق به این تعریف می‌رسیم که *یک ژن ناحیه‌ای از DNA است که محصول نهایی آن یک پلی‌پپتید یا یک مولکول RNA است.*

با این وجود، برای اکثر ژن‌ها هنوز فرضیهٔ یک ژن ـ یک پلی‌پپتید مفید است. در این فصل با نحوهٔ بیان متداول ژن، یعنی رونویسی به RNA و سپس ترجمهٔ آن به یک پلی‌پپتید تشکیل‌دهندهٔ پروتئینی با ساختار و فعالیت خاص به شیوهٔ مولکولی آشنا شدید. پروتئین‌ها به نوبهٔ خود فنوتیپ قابل مشاهدهٔ یک جاندار را به‌وجود می‌آورند.

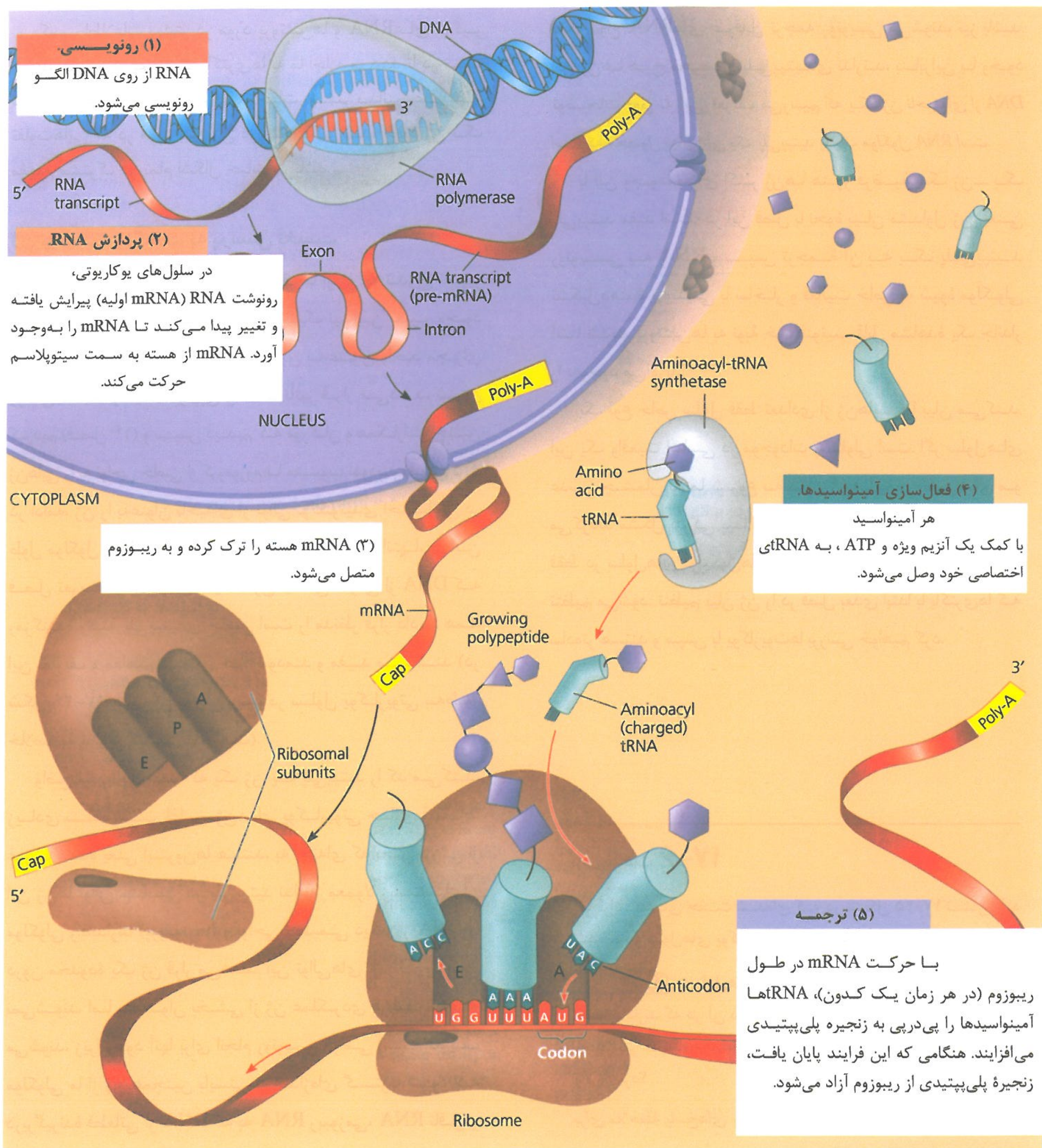
یک نوع خاص سلول فقط تعدادی از ژن‌هایش را بیان می‌کند. این یک واقعیت اساسی در موجودات پرسلولی است. اگر سلول‌های عدسی چشمان شما شروع به بیان ژن‌های پروتئین‌های مو می‌کردند مشکل بزرگی پیدا می‌کردید، چیزی که به‌طور معمول فقط در سلول‌های فولیکول‌های مو اتفاق می‌افتد! بیان ژن به دقت تنظیم می‌شود. تنظیم بیان ژن را در فصل بعدی ابتدا با باکتری‌ها که ساده‌تر هستند و سپس با یوکاریوت‌ها بررسی خواهیم کرد.

آزمون مبحث ۶-۱۷

۱. آیا فرایندهای جفت شده‌ای که در شکل ۲۵-۱۷ نشان داده شده‌اند در سلول‌های یوکاریوتی یافت می‌شوند؟ توضیح دهید.

۲. **چه می‌شد اگر؟** در سلول‌های یوکاریوتی، RNAهای پیک یک آرایش حلقوی دارند که در آن دُمِ دارای توالی پلی A توسط پروتئین‌ها مجاور سر $5'$ نگاه داشته می‌شود. چگونه این آرایش کارایی ترجمه را بالا می‌برد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.



▶ ۲۶-۱۷ خلاصه‌ای از رونویسی و ترجمه در سلول یوکاریوتی. *این تصویر، مسیر یک ژن تا پلی‌پپتید را نشان می‌دهد. به یاد داشته باشید که هر ژن در DNA قادر است به‌طور مداوم به مولکول‌های RNA زیادی رونویسی شود و هر مولکول RNA پیک نیز مولکول‌های پلی‌پپتید زیادی را به‌طور مکرر تولید می‌نماید. (همچنین به‌خاطر داشته باشید که محصول نهایی بعضی از ژن‌ها به‌جای پلی‌پپتید، مولکول‌های RNA مثل RNA ناقل یا RNA ریبوزومی است). به‌طور کلی مراحل رونویسی و ترجمه در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها شبیه هم می‌باشد. تفاوت مهم این دو در انجام فرایند پردازش RNA یوکاریوتی در هسته است. تفاوت‌های مهم دیگری نیز در مراحل آغازین ترجمه و رونویسی و مرحلهٔ پایان رونویسی یافت شده است.*

17 مرور فصل

خلاصه مفاهیم کلیدی

۱۷-۱ ژن‌ها از طریق رونویسی و ترجمه، پروتئین‌ها را تعیین می‌نمایند

○ DNA، متابولیسم سلول را با صدور فرمان ساخت و تولید آنزیم‌های خاص و دیگر پروتئین‌ها کنترل می‌نماید. آزمایش‌های بیدل و تیتوم با سویه‌های جهش‌یافتهٔ نوروسپورا فرضیهٔ یک ژن- یک آنزیم را اثبات نمود. ژن‌ها، رشته‌های پلی‌پپتیدی یا مولکول‌های RNA را رمزگذاری می‌کنند.

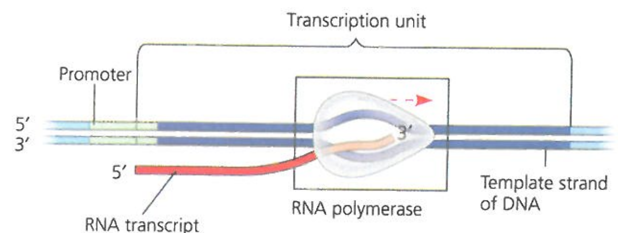
○ **رونویسی**، انتقال نوکلئوتید به نوکلئوتید اطلاعات از DNA به RNA می‌باشد، درحالی‌که **ترجمه** انتقال اطلاعات توالی نوکلئوتیدی از روی RNA به توالی آمینواسیدی برروی پلی‌پپتید است.

○ اطلاعات ژنتیکی به‌صورت یک توالی از بازهای سه‌گانهٔ غیرهمپوشان یا کدون، رمزگذاری شده‌اند. یک **کدون** در RNA پیک، هم می‌تواند به یک آمینواسید ترجمه شود (۶۱ کدون) و هم قادر است به‌عنوان علامت پایان ترجمه به‌کار گرفته شود (۳ کدون). کدون‌ها بایستی در یک **چهارچوب خواندن** صحیح قرائت شوند.


فرایند بیان ژن را که توسط آن یک ژن بر روی فنوتیپ یک جاندار تأثیر می‌گذارد شرح دهید.

۱۷-۲ نگاهی دقیق‌تر به رونویسی: فرایند ساخت RNA از روی DNA

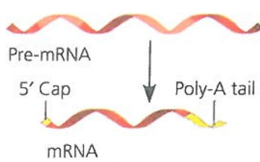
○ ساخت RNA به‌وسیله **RNA پلی‌مراز** انجام می‌شود. ساخت RNA مشابه همانندسازی DNA از همان قوانین جفت‌شدن بازها پیروی می‌کند، به جز آنکه در RNA باز یوراسیل جایگزین تیمین می‌شود.



○ سه مرحلهٔ رونویسی عبارتند از: آغاز، طویل شدن و پایان. **راه‌اندازها** آغاز ساخت RNA را نشان می‌دهند. **عوامل رونویسی** به RNA پلی‌مراز یوکاریوتی در تشخیص توالی‌های راه‌انداز کمک می‌کنند. مکانیسم‌های خاتمه بین یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها متفاوت است.


شباهت‌ها و تفاوت‌های شروع رونویسی از ژن، در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها، کدام هستند؟

۱۷-۳ سلول‌های یوکاریوتی، RNA را پس از رونویسی تغییر می‌دهند



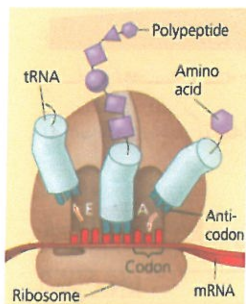
○ مولکول‌های RNA پیک یوکاریوتی قبل از ترک هسته با تغییراتی در دو انتها و پیرایش RNA، **پردازش** می‌شوند. انتهای'۵ یک کلاهک که، یک نوکلئوتید تغییریافته است، و انتهای'۳ یک دم پلی ـ A دریافت می‌کند.

○ اکثر ژن‌های یوکاریوتی حاوی **اینترون‌هایی** هستند که در بین **اگزون‌ها** یا نواحی رمزکننده پخش شده‌اند. در فرایند **پیرایش RNA**، اینترون‌ها حذف شده و اگزون‌ها به یکدیگر وصل می‌شوند. پیرایش RNA به‌وسیلهٔ **جسم پیرایش‌گر** انجام می‌شود اما در بعضی مواقع RNA به تنهایی نیز واکنش پیرایش را کاتالیز می‌نماید. مولکول‌های RNAی کاتالیزکننده را **ریبوزیم** می‌نامند. وجود اینترون‌ها **پیرایش متناوب RNA** را امکان‌پذیر می‌سازد.


کلاهک '۵ و دم پلی A موجود در mRNAی یوکاریوتی چه نقش‌هایی دارند؟

۱۷-٤ نگاهی دقیق‌تر به ترجمه: فرایند ساخت پلی‌پپتید از روی RNA

○ یک سلول پیام RNA پیک را باکمک **RNA ناقل** به‌صورت پروتئین ترجمه می‌کند. بعد از اتصال آمینو اسیدهای خاص به RNAهای ناقل، این مولکول‌ها به‌وسیله **آنتی‌کدون‌های** خود که مکمل کدون‌های RNA پیک هستند، برروی RNA پیک قرار می‌گیرند. **ریبوزوم‌ها** جفت‌شدن این دو را با فراهم نمودن جایگاه‌های اتصالی برای RNA پیک و RNA ناقل تسهیل می‌نمایند.



○ ریبوزوم‌ها سه مرحلهٔ ترجمه یعنی آغاز، طویل شدن و پایان را هماهنگ می‌سازند. تشکیل پیوند پپتیدی بین آمینو اسیدها به‌وسیله RNA ریبوزومی کاتالیز می‌شود. تعدادی از ریبوزوم‌ها قادر هستند همزمان از روی یک مولکول RNA ترجمه کرده و تشکیل یک **پلی‌ریبوزوم** را دهند.

○ بعد از ترجمه، تغییرات پروتئین‌ها می‌توانند شکل سه‌بعدی آنها را تحت تأثیر قرار دهند. ریبوزوم‌های آزاد در سیتوزول ساخت همهٔ پروتئین‌ها را آغاز می‌کنند اما پروتئین‌هایی که قرار است به سیستم غشاهای داخلی بروند یا ترشح شوند بایستی به سمت شبکهٔ آندوپلاسمی منتقل شوند. این پروتئین‌ها **پپتیدهای نشانه‌ای** دارند که **جزء تشخیص نشانه** به آنها متصل شده و ریبوزوم‌های در حال ترجمه را قادر می‌کند به شبکهٔ آندوپلاسمی اتصال یابند.


tRNAها در فرایند ترجمه چه نقشی ایفا می‌کنند؟

۱۷-۵ جهش در یک یا چند نوکلئوتید می‌تواند ساختار و عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد

- یک **جهش نقطه‌ای**، تغییر در یک جفت‌باز DNA است که ممکن است منجر به تولید یک پروتئین غیرفعال یا عدم تولید پروتئین شود. **جایگزینی بازها** سبب جهش‌های **بی‌معنی** یا **بدمعنی** می‌شود. حذف یا **اضافه شدن** جفت‌باز ممکن است **جهش‌های تغییر چهارچوب** را به‌وجود آورد.

- جهش‌های خودبه‌خودی در حین همانندسازی DNA، نوترکیبی و یا ترمیم DNA اتفاق می‌افتد. **عوامل جهش‌زای** فیزیکی و شیمیایی نیز می‌توانند ژن‌ها را تغییر دهند.

> ? **تغییر شیمیایی یک باز نوکلئوتید در یک ژن چه تأثیراتی خواهد داشت؟ سیستم‌های ترمیم DNA در سلول چه نقشی ایفا می‌کنند؟**

۱۷-۶ با آن که بیان ژن در میان حوزه‌های مختلف حیات متفاوت است، مفهوم ژن جهانی می‌باشد

- چون سلول‌های باکتریایی فاقد غشای هسته هستند، ترجمه می‌تواند درحالی‌که رونویسی هنوز در حال انجام است، شروع شود. آرکی باکتری‌ها در مراحل بیان ژن‌های خود، شباهت‌هایی را به هر دو نوع سلول یوکاریوتی و باکتریایی نشان می‌دهند. در سلول یوکاریوتی، غشای هسته رونویسی را از ترجمه جدا می‌کند و پیرایش دقیق RNA در هسته میسر می‌شود.
- یک ژن منطقه‌ای از DNA می‌باشد که محصول عملکردی نهایی آن یک پروتئین یا یک مولکول RNA می‌باشد.

> ? **وجود پوشش هسته‌ای در یوکاریوت‌ها، چه تأثیری بر روی بیان ژن دارد؟**

خود را بیازمایید

*با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** به سؤالات چند گزینه‌ای ۱ تا ۷ پاسخ دهید.*

۸- **رسم کنید:** جدول زیر را پر کنید:

نوع RNA	عملکردها
RNA پیک	
RNA ناقل	
	عملکرد کاتالیتیکی و ساختمانی در ریبوزوم‌ها دارد
رونوشت اولیه	
RNA کوچک هسته‌ای	

۹- ارتباط تکاملی

اغلب آمینواسیدها توسط یک سری کدون‌های مشابه کد می‌شوند (شکل ۵-۱۷ را ببینید). چه توضیح تکاملی برای این پدیده دارید؟ (راهنمایی: یک توضیح، وجود یک تاریخچهٔ اجدادی مشترک در موجودات است.)

۱۰- تحقیق علمی

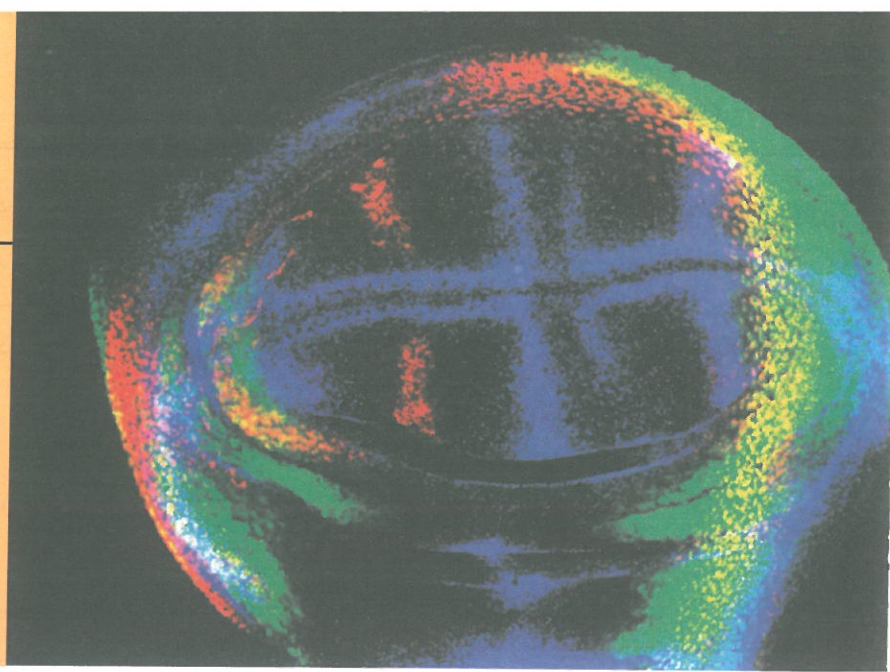
با توجه به اینکه رمز ژنتیکی جهانی و عمومی است، یک دانشمند از روش‌های بیولوژی مولکولی استفاده می‌کند تا ژن β- گلوبین انسانی (نشان داده شده در شکل ۱۱-۱۷) را وارد سلول‌های باکتریایی کند و امیدوار است تا این سلول‌ها پروتئین β- گلوبین فعال انسانی را تولید کنند. ولی پروتئین تولیدشده غیرفعال است و تعداد آمینواسیدهای کمتری نسبت به β- گلوبینی که توسط سلول‌های یوکاریوتی تولید می‌شود دارد. توضیح دهید چرا؟

۱۱- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

تکامل و اساس ژنتیکی حیات تکامل موجب یکپارچگی و تنوع حیات می‌شود، و ادامهٔ حیات به اطلاعات وراثتی به شکل DNA بستگی دارد. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت)، بحث کنید که چگونه صحت توارث DNA با فرایند تکامل در ارتباط است. (بحث و ترمیم DNA در مبحث ۲-۱۶ را مطالعه کنید.)

18

تنظیم بیان ژن



◀ شکل ۱- ۱۸ چه چیزی الگوی دقیق بیان ژن‌ها در بال در حال تکوین جنین یک مگس را تنظیم می‌کند؟

مفاهیم کلیدی

۱- ۱۸ باکتری‌ها اغلب از طریق تنظیم رونویسی، به‌تغییرات محیطی واکنش نشان می‌دهند

۲- ۱۸ بیان ژن‌های یوکاریوتی در مراحل متعددی قابل تنظیم است

۳- ۱۸ RNAهای غیررمزکننده، نقش‌های متعددی در تنظیم بیان ژن دارند

۴- ۱۸ برنامه‌ای که موجب بیان متفاوت ژن‌ها می‌شود، باعث به‌وجود آمدن انواع مختلف سلول‌ها در یک موجود پرسلولی می‌گردد

۵- ۱۸ سرطان از تغییرات ژنتیکی که کنترل چرخهٔ سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ناشی می‌شود

نگاه کلی

هدایت ارکستر ژنتیک

نی صدای تیز بلندی ایجاد می‌کند، تعداد زیادی ویولون با یک صدای زیر جیغ می‌کشند و شیپور صدای بم‌اش را به این هیاهو اضافه می‌کند. سپس چوب رهبر ارکستر بالا می‌رود، می‌ایستد و شروع به انجام یک سری حرکات استادانه و ظریف می‌کند، در لحظات خاص وسیلهٔ خاصی را برای پیوستن به ارکستر و دیگران را به بالا بردن یا پایین آوردن صدایشان، هدایت می‌کند. صداهای ناموزون به‌شکلی متعادل و زمان‌بندی‌شده، تبدیل به یک سمفونی زیبا می‌شوند که شنونده را از خود بی‌خود می‌کند.

سلول‌ها نیز به شکل مشابهی به‌طور دقیق و پیچیده، بیان ژن‌های خود را تنظیم می‌کنند. هم یوکاریوت‌ها و هم پروکاریوت‌ها باید الگوی بیان ژن‌های خود را در پاسخ به تغییرات محیطی تغییر دهند. یوکاریوت‌های پرسلولی همچنین باید انواع مختلفی از سلول را تولید و حفظ کنند. هر نوع سلول حاوی ژنوم یکسانی است ولی زیرمجموعهٔ مختلفی از ژن‌ها را بیان می‌کند، موضوعی که چالشی بزرگ در زمینهٔ تنظیم ژن است.

برای مثال، یک مگس سرکهٔ بالغ از یک تخم بارور شده، شکل می‌گیرد و از یک مرحلهٔ کرمی‌شکل به‌نام «لارو» عبور می‌کند. در هر مرحله، بیان ژن به‌دقت تنظیم می‌شود و ژن‌ها فقط در زمان و مکان مناسب بیان می‌شوند. در لارو، بال بالغ در یک کیسهٔ دایره‌ای‌شکل حاوی هزاران سلول که در **شکل ۱- ۱۸** نشان داده شده است، تشکیل می‌شود. روی بافت در این تصویر طوری عمل شده که RNA پیک مربوط به سه ژن را نشان دهد که با رنگ‌های آبی، قرمز و سبز نشان داده شده‌اند (با استفاده از تکنیک‌هایی که در فصل ۲۰ ذکر می‌شوند). قرمز و سبز با هم زرد به‌نظر می‌رسند. الگوی پیچیدهٔ بیان هر ژن، در این مرحله در تمام لاروها یکسان است و نمایش گرافیکی از دقت تنظیم بیان ژن حکایت می‌کند. ولی پایهٔ مولکولی این الگو چیست؟ چرا یک ژن خاص فقط در چند صد سلولی که در شکل آبی‌رنگ دیده می‌شوند، بیان می‌شود و در بقیه بیان نمی‌گردد؟

در این فصل، ما ابتدا نحوهٔ تنظیم بیان ژن در باکتری‌ها را، در پاسخ به تغییرات محیطی بررسی می‌کنیم و سپس خواهیم دید که یوکاریوت‌ها چگونه تنظیم بیان ژن‌هایشان را برای ایجاد انواع مختلف سلولی انجام می‌دهند. بیان ژن در یوکاریوت‌ها، همانند باکتری‌ها، اغلب در مرحلهٔ رونویسی تنظیم می‌شود، ولی کنترل بقیهٔ مراحل بیان ژن هم مهم است. در سال‌های اخیر، محققان از کشف نقش‌های مختلف مولکول‌های RNA در تنظیم بیان ژن یوکاریوت‌ها شگفت‌زده شده‌اند، موضوعی که بعداً به آن می‌پردازیم. با کنار هم قرار دادن جنبه‌های مختلف تنظیم ژن، نتیجه می‌گیریم که چگونه یک برنامهٔ دقیق تنظیم بیان ژن باعث می‌شود تا یک

سلول واحد، (یک تخم بارور شده) به یک موجود زندهٔ عملکردی که از انواع مختلف سلول تشکیل شده است، تبدیل شود. در آخر خواهیم دید که چگونه اختلالات در تنظیم ژن باعث سرطان می‌شود. هماهنگی تنظیم ژن در سلول‌ها با توجه به عملکردشان انجام می‌شود.

۱۸-۱ باکتری‌ها اغلب از طریق تنظیم رونویسی، به تغییرات محیطی واکنش نشان می‌دهند

سلول‌های باکتریایی که قادرند منابع و انرژی را حفظ کنند، نسبت به آنهایی که توانایی این کار را ندارند، یک مزیت انتخابی دارند. بنابراین انتخاب طبیعی، باکتری‌هایی را انتخاب کرده که فقط ژن‌هایی را بیان می‌کنند که فراورده‌هایشان مورد نیاز سلول است.

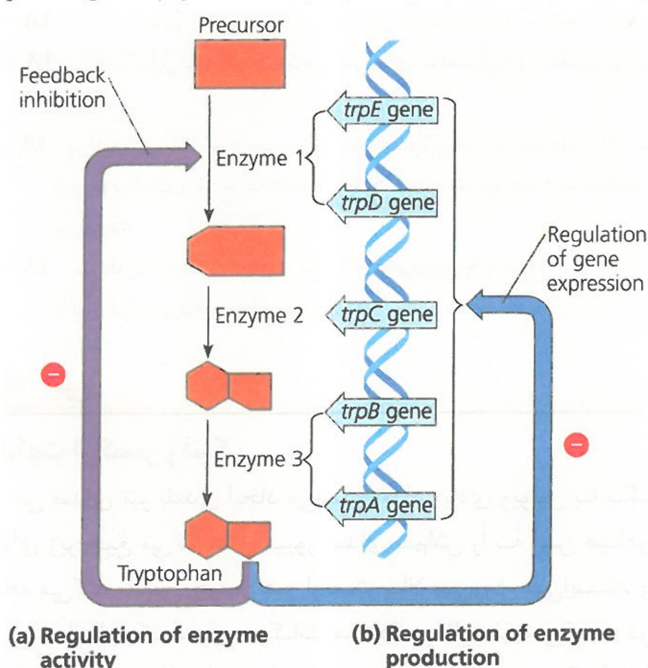
به‌عنوان مثال، یک سلول *E. coli* را درنظر بگیرید که در محیط غیرقابل پیش‌بینی کولون انسان زندگی می‌کند، محیطی که منابع غذایی‌اش به عادت‌های غذایی میزبان وابسته است. اگر این محیط فاقد آمینو اسید تریپتوفان باشد، یعنی آمینواسیدی که باکتری برای زنده‌ماندن به آن نیاز دارد، سلول یک مسیر متابولیک را فعال می‌کند که تریپتوفان را از یک ترکیب دیگر بسازد. بعداً اگر میزبان یک غذای غنی از آمینواسید تریپتوفان بخورد، سلول باکتری ساختن تریپتوفان را متوقف می‌کند تا از هدر دادن منابعش برای تولید ماده‌ای که به شکل پیش‌ساخته در محلول اطراف وجود دارد، جلوگیری کند. این فقط یک مثال از چگونگی تغییر متابولیسم باکتری‌ها در پاسخ به تغییرات محیط است.

چنانکه در مورد سنتز تریپتوفان در **شکل ۲- ۱۸** نشان داده شده است، کنترل متابولیسم در دو مرحله انجام می‌پذیرد. نخست اینکه، سلول‌ها می‌توانند عملکرد آنزیم‌هایی که از قبل موجود هستند را تعدیل کنند. این یک پاسخ نسبتاً سریع است که به حساسیت آنزیم‌های مختلف به مواد شیمیایی که عملکرد کاتالیتیک آنها را افزایش یا کاهش می‌دهند، بستگی دارد (فصل ۸ را ببینید). عملکرد اولین آنزیم در مسیر ساخت تریپتوفان به‌وسیلهٔ محصول نهایی این مسیر، مهار می‌شود (**شکل ۲a- ۱۸**). همین‌طور اگر تریپتوفان در یک سلول تجمع پیدا کند، ساخت تریپتوفان بیشتر را از طریق مهار عملکرد آنزیم، متوقف می‌سازد. چنین خودتنظیمی‌های منفی که نمونهٔ بارز آن در مسیرهای آنابولیک (بیوسنتز) دیده می‌شود، به سلول اجازه می‌دهد تا با نوسان‌های کوتاه‌مدت در مقدار مواد مورد نیازش سازش پیدا کند.

دوم، سلول‌ها می‌توانند مقدار تولید آنزیم‌های خاص را تنظیم کنند. بدین‌گونه که بیان ژن‌های رمزکنندهٔ این آنزیم‌ها را تنظیم می‌کنند. اگر در مثال ما محیط، تمام تریپتوفانی را که سلول نیاز دارد تأمین کند، سلول ساخت آنزیم‌هایی که برای ساخت تریپتوفان لازم هستند را متوقف می‌کند (**شکل ۲b- ۱۸**). در این مورد، کنترل تولید آنزیم در مرحلهٔ رونویسی، یعنی مرحلهٔ ساخت RNA پیک رمزکنندهٔ این آنزیم‌ها، انجام می‌گیرد. به‌طورکلی‌تر، ژن‌های زیادی از ژنوم باکتریایی با توجه به تغییرات وضعیت متابولیک سلول، روشن یا خاموش می‌شوند. مکانیسم پایهٔ تنظیم بیان ژن در باکتری‌ها مدل اپران[1] نامیده می‌شود و در سال ۱۹۶۱ توسط فرانسیس ژاکوب[2] و جیکوس مونو[3] در انستیتو پاستور در پاریس کشف شد. حال با استفاده از مثال اول دربارهٔ، کنترل ساخت تریپتوفان ببینیم که یک اپران چیست و چگونه کار می‌کند.

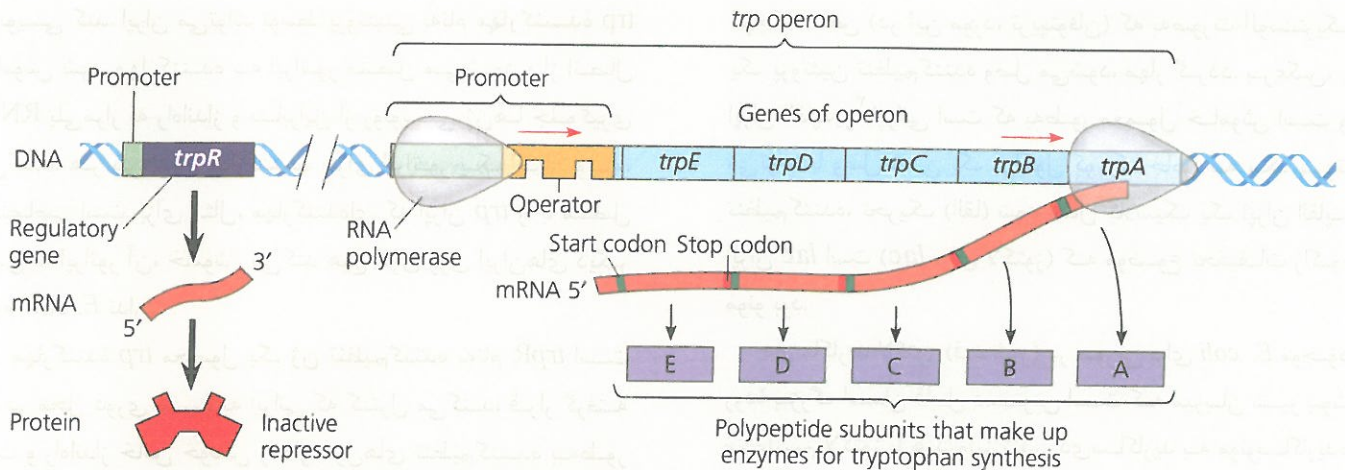
اپران: مفهوم پایه

E. coli آمینواسید تریپتوفان را در یک مسیر چندمرحله‌ای که در شکل ۲- ۱۸ نشان داده شده است، از یک مولکول پیش‌ساز می‌سازد. هر واکنش در این مسیر به‌وسیلهٔ یک آنزیم خاص کاتالیز

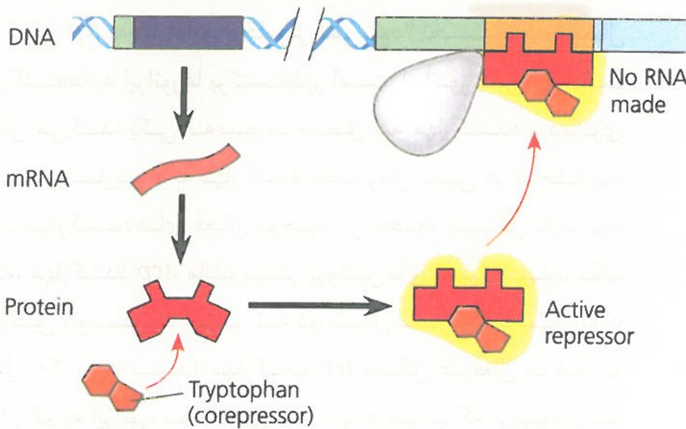


◀ **شکل ۲- ۱۸ تنظیم یک مسیر متابولیک.** در مسیر ساخت تریپتوفان، تجمع تریپتوفان می‌تواند: (a) فعالیت اولین آنزیم در مسیر را مهار کند (خودتنظیمی منفی) که یک پاسخ سریع می‌باشد، (b) بیان ژن‌های رمزکنندهٔ تمام زیرواحدهای آنزیم‌های مسیر را مهار کند که یک پاسخ طولانی‌مدت می‌باشد. ژن‌های *trpE* و *trpD* دو زیرواحد آنزیم ۱ را رمز می‌کنند و ژن‌های *trpA* و *trpB* مسئول رمز کردن دو زیرواحد آنزیم ۳ هستند. (ژن‌ها به‌ترتیبی که در این مسیر متابولیک فعالیت می‌کنند نام‌گذاری شده‌اند). علامت (-) به‌معنای بازدارندگی است.

1- Operon model
2- Francois Jacob
3- Jacques Monod



(a) Tryptophan absent, repressor inactive, operon on. RNA polymerase attaches to the DNA at the promoter and transcribes the operon's genes.



(b) Tryptophan present, repressor active, operon off. As tryptophan accumulates, it inhibits its own production by activating the repressor protein, which binds to the operator, blocking transcription.

◀ **شکل ۳- ۱۸ اُپران trp در *E. coli*: تولید کنترل شدهٔ آنزیم‌های قابل مهار.** تریپتوفان یک آمینواسید است که در یک مسیر آنابولیک به‌وسیلهٔ آنزیم‌های قابل مهار، ساخته می‌شود. (a) پنج ژنی که زیرواحدهای آنزیم‌های این مسیر را رمز می‌کنند (شکل ۲- ۱۸ را ببینید) همگی با هم، بعد از راه‌انداز در اُپران trp قرار گرفته‌اند. اپراتور trp (محل اتصال مهارکننده) درون راه‌انداز (محل اتصال RNA پلی‌مراز) قرار گرفته است. (b) تجمع تریپتوفان، محصول نهایی این مسیر، رونویسی از اُپران trp را مهار می‌کند بنابراین ساخت تمام آنزیم‌های این مسیر مسدود می‌شود.



توضیح دهید وقتی سلول، ذخیرهٔ تریپتوفان خود را مصرف کند، برای اُپران *trp* چه اتفاقی می‌افتد؟

می‌شود و پنج ژنی که زیرواحدهای این آنزیم‌ها را رمز می‌کنند با هم در کروموزوم باکتریایی جمع هستند. یک راه‌انداز واحد برای این پنج ژن وجود دارد که با هم یک واحد رونویسی را تشکیل می‌دهند. (از فصل ۱۷ به‌یاد بیاورید که راه‌انداز منطقه‌ای است که RNA پلی‌مراز می‌تواند به DNA متصل شود و رونویسی را شروع کند.) رونویسی منجر به ساخت یک مولکول RNA پیک طویل می‌شود که پنج پلی‌پپتید سازندهٔ آنزیم‌های مسیر تریپتوفان را رمز می‌کند. سلول می‌تواند این RNA پیک واحد را به پنج پلی‌پپتید جداگانه ترجمه کند زیرا RNA پیک با کدون‌های آغاز و پایان نشانه‌گذاری شده است که توالی رمزکنندهٔ هر پلی‌پپتید را نشان می‌دهند.

مزیت ویژهٔ گروه‌بندی ژن‌های مربوط به یک عملکرد مرتبط در یک واحد رونویسی این است که یک کلید روشن ـ خاموش واحد می‌تواند کل مجموعهٔ ژن‌های مرتبط را کنترل کند. به بیان دیگر، این ژن‌ها تحت «کنترل هماهنگ[1]» هستند. وقتی یک سلول *E. coli* باید تریپتوفان برای خودش بسازد، چون محیط کشت فاقد این آمینواسید است، تمام آنزیم‌های این مسیر متابولیک در یک زمان ساخته می‌شوند. کلید مذکور، قسمتی از DNA است که **اپراتور**[2] نامیده می‌شود. هم مکان اپراتور و هم اسم آن، با عملکردش تناسب دارند، چون اپراتور درون راه‌انداز و یا در بعضی موارد بین راه‌انداز و ژن‌های رمزکنندهٔ آنزیم‌ها قرار می‌گیرد و دسترسی RNA پلی‌مراز به ژن‌ها را کنترل می‌کند. اپراتور، راه‌انداز و ژن‌هایی که آنها کنترل می‌کنند ـ رشته‌ای از DNA که برای ساخت آنزیم‌های مسیر تریپتوفان لازم است ـ همگی با هم اپران را تشکیل می‌دهند. **اپران *trp*** (*trp* برای تریپتوفان) یکی از چندین اپرانی است که در ژنوم *E. coli* وجود دارد (**شکل ۳- ۱۸**).

اگر اپراتور کلید کنترل رونویسی است، این کلید چگونه عمل می‌کند؟ اپران *trp* به خودی خود، روشن است. یعنی RNA پلی‌مراز می‌تواند به راه‌انداز متصل می‌شود و ژن‌های اپران را

1- Coordinate control

2- Operator

رونویسی کند. اپران می‌تواند توسط پروتئینی به‌نام **مهارکنندهٔ trp** خاموش شود. مهارکننده به اپراتور متصل می‌شود و از اتصال RNA پلی‌مراز به راه‌انداز و بنابراین از رونویسی ژن‌ها جلوگیری می‌کند. هر پروتئین مهارکننده برای اپراتورِ یک اپران ویژه، اختصاصی است. برای مثال، مهارکننده‌ای که اپران *trp* را با متصل شدن به اپراتور آن، خاموش می‌کند هیچ اثری روی اپران‌های دیگر ژنوم *E. coli* ندارد.

مهارکنندهٔ *trp* محصول یک **ژن تنظیم‌کننده** به‌نام *trp*R است که در محل دوری نسبت به اپرانی که کنترل می‌کند، قرار گرفته است و راه‌انداز خاص خودش را دارد. ژن‌های تنظیم‌کننده به‌طور مستمر، هر چند به مقدار کم، بیان می‌شوند و همیشه مقدار کمی از مولکول‌های مهارکنندهٔ *trp* در سلول‌های *E. coli* وجود دارند. ولی چرا اپران *trp* به‌طور دائمی خاموش نمی‌شود؟ نخست اینکه، اتصال مهارکننده‌ها به اپراتورها برگشت‌پذیر است. اپراتور بین دو حالت نوسان می‌کند: یکی به‌صورت متصل به مهارکننده و دیگری به‌صورت متصل‌نشده به مهارکننده. مدت زمان نسبی هر مرحله به تعداد مهارکننده‌های فعال موجود در محیط بستگی دارد. دوم اینکه، مهارکنندهٔ *trp*، مانند بیشتر پروتئین‌های تنظیم‌کننده، یک پروتئین آلوستریک است که دو شکل فعال و غیرفعال دارد (شکل ۲۰- ۸ را ببینید). مهارکنندهٔ *trp* به‌شکل غیرفعال با قدرت اتصال کم به اپراتور، ساخته می‌شود. تنها درصورتی‌که تریپتوفان به مهارکنندهٔ *trp* در یک جایگاه آلوستریک متصل شود، پروتئین‌های مهارکننده به شکل فعال، یعنی شکلی که می‌تواند به اپراتور وصل شود و اپران را خاموش کند، در می‌آیند.

تریپتوفان در این سیستم به‌عنوان **کمک‌مهارکننده**[1] عمل می‌کند، یعنی مولکول کوچکی که با پروتئین مهارکننده همکاری می‌کند تا اپران خاموش شود. وقتی تریپتوفان تجمع می‌یابد، مولکول‌های تریپتوفان بیشتری به مولکول‌های مهارکنندهٔ *trp* متصل می‌شوند، مولکولی که سپس می‌تواند به اپراتور *trp* متصل شود و تولید آنزیم‌های مسیر تریپتوفان را خاموش کند. اگر سطح تریپتوفان سلول افت کند، رونویسی ژن‌های اپران ادامه پیدا می‌کند. این یک مثال از چگونگی تنظیم بیان ژن است که می‌توانند به تغییرات محیط داخل و خارج سلول پاسخ دهد.

اپران‌های قابل سرکوب و القاپذیر: دو روش تنظیم منفی ژن

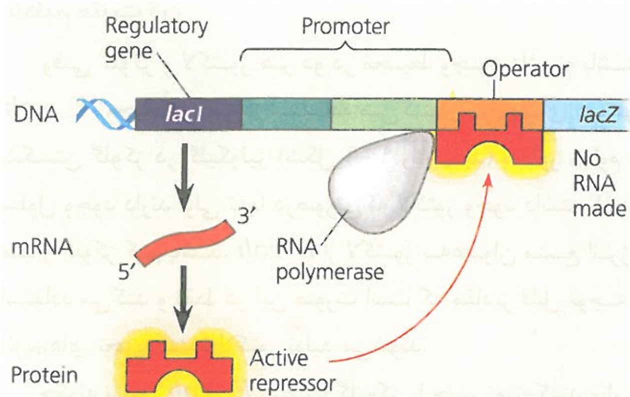
اپران *trp* یک اپران قابل سرکوب[2] نامیده می‌شود، زیرا رونویسی آن به‌طور معمول روشن است ولی می‌تواند به‌وسیلهٔ یک مولکول کوچک خاص (در این مورد، تریپتوفان) که به‌صورت آلوستریک به یک پروتئین تنظیم‌کننده وصل می‌شود، مهار گردد. برعکس، یک اپران القاپذیر[3] اپرانی است که به‌طور معمول خاموش است ولی می‌تواند با وصل شدن یک مولکول کوچک خاص به یک پروتئین تنظیم‌کننده، تحریک (القا) شود. مثال کلاسیک یک اپران القاپذیر، اپران *lac* است (*lac* برای لاکتوز) که موضوع تحقیقات ژاکوب و مونو بود.

دی‌ساکارید لاکتوز (قند شیر) در صورتی برای *E. coli* موجود در رودهٔ بزرگ انسان قابل دسترس است که میزبان شیر بنوشد. متابولیسم لاکتوز با هیدرولیز شدن دی‌ساکارید به مونوساکاریدهای سازنده‌اش یعنی گلوکز و گالاکتوز شروع می‌شود، واکنشی که به‌وسیلهٔ آنزیم β ـ گالاکتوزیداز انجام می‌شود. در سلول *E. coli* ای که در محیط فاقد لاکتوز زندگی می‌کند، فقط تعداد کمی از این آنزیم وجود دارند. اما اگر لاکتوز به محیط *E. coli* اضافه شود، این تعداد آنزیم در عرض ۱۵ دقیقه، هزار برابر می‌شود.

ژنِ آنزیم β ـ گالاکتوزیداز قسمتی از اپران *lac* است؛ در این اپران، دو ژن دیگر نیز وجود دارند که دو آنزیم دیگر که برای مصرف لاکتوز لازم هستند را رمز می‌کنند. کل این واحد رونویسی، یک اپراتور و راه‌انداز دارد. ژن تنظیم‌کنندهٔ *lac*I که در بیرون اپران *lac* قرار گرفته است، یک پروتئین آلوستریک مهارکننده را رمز می‌کند که می‌تواند به اپراتور متصل شود و اپران را خاموش کند. این شبیه به تنظیم اپران *trp* به‌نظر می‌رسد ولی یک تفاوت عمده با آن دارد. فراموش نکنید که مهارکنندهٔ *trp* به‌خودی خود غیرفعال است و برای متصل شدن به اپراتور به یک کمک مهارکننده یعنی تریپتوفان نیاز دارد. درصورتی‌که مهارکنندهٔ *lac* خودبه‌خود فعال است و می‌تواند به اپراتور متصل شود و اپران را خاموش کند. در این مورد، یک مولکول کوچک خاص به‌نام **القاکننده**[4]، مهارکننده را *غیرفعال* می‌کند.

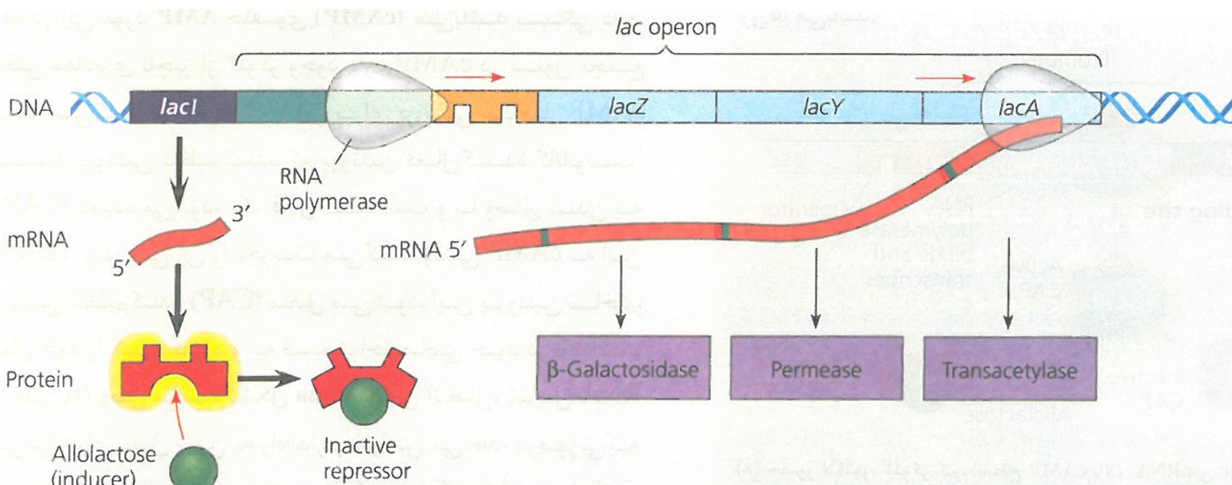
برای اپران *lac*، این مولکول القاکننده، آلولاکتوز می‌باشد. آلولاکتوز ایزومری از لاکتوز می‌باشد که از لاکتوز وارد شده به سلول، در مقادیر کم ساخته می‌شود. در غیاب لاکتوز (و بنابراین آلولاکتوز)، مهارکنندهٔ *lac* در حالت فعال خود باقی می‌ماند و ژن‌های اپران *lac* خاموش می‌شوند (**شکل ۴a - ۱۸**). اگر لاکتوز به محیط اطراف سلول اضافه شود، آلولاکتوز به مهارکنندهٔ *lac* وصل می‌شود و شکل آن‌را تغییر می‌دهد. بنابراین توانایی مهارکننده برای متصل شدن به اپراتور از بین می‌رود. بدون اتصال مهارکننده، اپران *lac* برای تولید آنزیم‌های مصرف‌کنندهٔ لاکتوز به RNA پیک رونویسی می‌شود (**شکل ۴b - ۱۸**).

1- Corepressor
2- Repressible operon
3- Inducible
4- Inducer



(a) Lactose absent, repressor active, operon off. The *lac* repressor is innately active, and in the absence of lactose it switches off the operon by binding to the operator.

شکل ۴-۱۸ اُپران lac در *E. coli*: ساخت تنظیم‌شدهٔ آنزیم‌های القاپذیر. *E. coli* از سه آنزیم برای جذب و متابولیزه کردن لاکتوز استفاده می‌کند. ژن‌های این سه آنزیم در اپران lac با هم جمع می‌شوند. یکی از ژن‌ها، *lacZ*، آنزیم β ـ گالاکتوزیداز را رمز می‌کند که مسئول هیدرولیز لاکتوز به گلوکز و گالاکتوز می‌باشد. ژن دوم، *lacY*، پرمئاز را رمز می‌کند، یک پروتئین غشایی که لاکتوز را به داخل سلول انتقال می‌دهد. ژن سوم، *lacA*، آنزیمی به‌نام ترانس‌استیلاز را رمز می‌کند که عملکرد آن در متابولیسم لاکتوز هنوز مشخص نیست. ژن مهارکنندهٔ *lacI*، lac در مکان غیرمعمولی یعنی کنار اپران lac قرار گرفته است. عملکرد قسمت سبز تیره در بالادست (سمت چپ) راه‌انداز در شکل ۵-۱۸ نشان داده شده است.



(b) Lactose present, repressor inactive, operon on. Allolactose, an isomer of lactose, derepresses the operon by inactivating the repressor. In this way, the enzymes for lactose utilization are induced.

در زمینهٔ تنظیم ژن، آنزیم‌های مسیر لاکتوز، آنزیم‌های القاپذیر خوانده می‌شوند زیرا ساخته شدن آنها به‌وسیلهٔ یک سیگنال شیمیایی (آلولاکتوز در این مورد) القا می‌شود. برعکس، آنزیم‌های مسیر ساخت تریپتوفان، آنزیم‌های قابل سرکوب نامیده می‌شوند. آنزیم‌های قابل سرکوب[1] معمولاً در مسیرهای آنابولیک عمل می‌کنند که محصولات نهایی را از مواد خام (پیش‌سازها) می‌سازند. سلول با معوق کردن ساخت محصولاتی که به مقدار کافی وجود دارند، می‌تواند پیش‌سازهای آلی و انرژی خود را به موارد دیگر اختصاص دهد. برعکس، آنزیم‌های القاپذیر معمولاً در مسیرهای کاتابولیکی عمل می‌کنند که در آنها یک مادهٔ غذایی به مولکول‌های کوچک‌تر می‌شکنند. با ساختن آنزیم‌های مناسب فقط در زمانی‌که مادهٔ غذایی وجود دارد، سلول از هدر رفتن انرژی و پیش‌سازها جلوگیری کرده و از آنها برای ساخت پروتئین‌های مورد نیاز استفاده می‌کند.

تنظیم اپران‌های *lac* و *trp* ، هر دو در مقولهٔ کنترل منفی ژن‌ها[2] قرار می‌گیرد. زیرا اپران‌ها به‌وسیلهٔ فرم فعال پروتئین‌های مهارکننده خاموش می‌شوند. این عمل در مورد اپران *trp* راحت‌تر دیده می‌شود ولی برای اپران *lac* نیز صدق می‌کند. آلولاکتوز با رها کردن اپران *lac* از اثر منفی مهارکننده، تولید آنزیم از ژنوم را به‌طور غیرمستقیم تسهیل می‌کند. تنظیم ژن تنها درصورتی مثبت خوانده می‌شود که پروتئین تنظیم‌کننده به‌طور مستقیم روی ژنوم عمل کند و رونویسی را روشن نماید. بیایید دوباره به مثالی از کنترل مثبت ژن‌ها، در اپران *lac*، نگاه کنیم.

1- Repressible enzymes

2- Negative control of genes

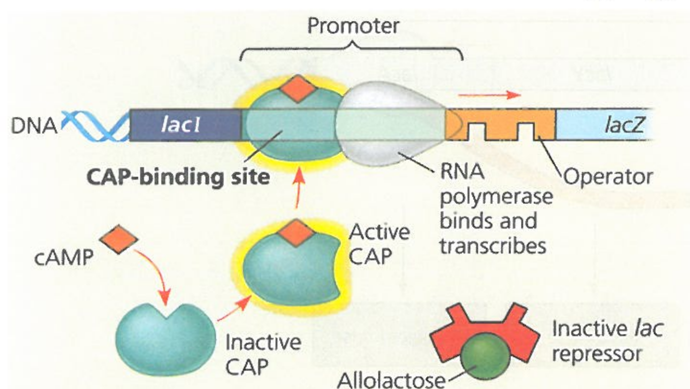
تنظیم مثبت ژن

وقتی گلوکز و لاکتوز هر دو در محیط وجود داشته باشند، *E. coli* ترجیحاً از گلوکز استفاده می‌کند. آنزیم‌های مسئول شکستن گلوکز در گلیکولیز (شکل ۹- ۹ را ببینید) به‌طور مداوم در سلول وجود دارند. ولی تنها درصورتی‌که لاکتوز وجود داشته باشد و مقدار گلوکز کم باشد، *E. coli* از لاکتوز به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند و فقط در این صورت است که مقادیر قابل توجه از آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ لاکتوز تولید می‌شوند.

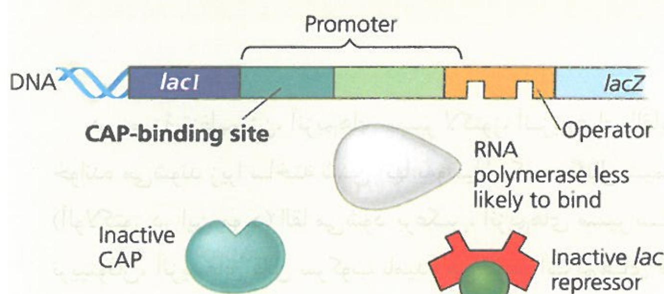
چگونه سلول *E. coli* غلظت گلوکز را حس می‌کند و این اطلاعات را به ژنوم منعکس می‌نماید؟ این عمل دوباره به میانکنش بین یک پروتئین تنظیم‌کنندهٔ آلوستریک و یک مولکول آلی کوچک که در این مورد **AMP حلقوی (cAMP)** می‌باشد بستگی دارد. وقتی مقادیری ناچیز از گلوکز وجود دارد cAMP در سلول تجمع پیدا می‌کند (شکل ۱۱- ۱۱ را برای بررسی ساختار cAMP ببینید). پروتئین تنظیم‌کننده که پروتئین فعال‌کنندهٔ کاتابولیت[1] (CAP) نامیده می‌شود، یک **فعال‌کننده** است و با وصل شدن به DNA، رونویسی ژن را تحریک می‌کند. وقتی cAMP به این پروتئین تنظیم‌کننده (CAP) متصل می‌شود، این پروتئین ساختار فعال خود را کسب کرده و به قسمت اختصاصی خود در بالادست راه‌انداز *lac* وصل می‌شود (**شکل ۵a- ۱۸**). این اتصال، تمایل RNA پلی‌مراز برای وصل شدن به راه‌انداز را افزایش می‌دهد، درصورتی‌که در نبود این اتصال، حتی در صورتی‌که مهارکننده‌ای به اپراتور متصل نباشد، این تمایل کم است. اتصال CAP به راه‌انداز به‌طور مستقیم میزان رونویسی را از طریق تسهیل کردن اتصال RNA پلی‌مراز به راه‌انداز افزایش می‌دهد. این مکانیسم، تنظیم مثبت می‌باشد.

اگر مقدار گلوکز در سلول افزایش پیدا کند، غلظت cAMP کاهش می‌یابد و بنابراین بدون cAMP، CAP از اپران جدا می‌شود. چون CAP غیرفعال است، RNA پلی‌مراز کمتر به راه‌انداز متصل می‌شود و رونویسی از اپران *lac* فقط به مقدار کمی انجام می‌شود (**شکل ۵b- ۱۸**). بنابراین اپران *lac* تحت کنترل دوگانه قرار دارد. یکی کنترل منفی با مهارکنندهٔ *lac* و دیگری کنترل مثبت با CAP. مهارکنندهٔ *lac* (با یا بدون اتصال به آلولاکتوز) تعیین می‌کند که رونویسی از اپران *lac* انجام شود یا نه، ولی CAP (با یا بدون اتصال به cAMP) تنها درصورتی که مهارکننده به اپران متصل نباشد، «سرعت[2]» رونویسی را تعیین می‌کند. بنابراین اپران هم یک کلید روشن و خاموش دارد و هم یک کنترل‌کنندهٔ سرعت.

علاوه بر اپران *lac*، CAP اپران‌های دیگری را هم که آنزیم‌های مورد استفاده در مسیرهای کاتابولیک را می‌سازند، تنظیم می‌کند. گفته می‌شوند که CAP احتمالاً بیان بیش از ۱۰۰ ژن در *E. coli* را تحت تأثیر قرار می‌دهد. وقتی گلوکز به مقدار زیاد موجود است و CAP غیرفعال می‌باشد، ساخت آنزیم‌هایی که ترکیبات دیگر به‌جز گلوکز را کاتابولیزه می‌کنند، کاهش می‌یابد. توانایی سلول در کاتابولیزه کردن ترکیبات دیگر مانند لاکتوز در سلولی که از گلوکز محروم شده است، آن‌را زنده نگه می‌دارد. مقدار ترکیبات موجود در سلول تعیین می‌کند که کدام اپران‌ها روشن باشند. این عمل نتیجهٔ میانکنش بین پروتئین‌های فعال‌کننده و مهارکننده با راه‌انداز ژن‌ها می‌باشد.



(a) حضور لاکتوز، گلوکز کم، (سطح cAMP بالا): mRNAی *lac* بسیاری سنتز می‌شود. اگر گلوکز نادر باشد، سطح بالای cAMP، CAP را فعال می‌کند و اپران *lac* مقادیر زیادی از mRNAی کد کنندهٔ آنزیم‌های مسیر لاکتوز را تولید می‌کند.



(b) حضور لاکتوز، حضور گلوکز (سطح cAMP پایین): mRNAی *lac* کمی سنتز می‌شود. در حضور گلوکز، cAMP کم است و CAP قادر به تحریک رونویسی به میزان کافی نیست، حتی اگر بازدارنده‌ای متصل نشده باشد.

شکل ۵- ۱۸ کنترل مثبت اُپران *lac* به‌وسیلهٔ پروتئین فعال‌کنندهٔ کاتابولیت (CAP). *RNA پلی‌مراز فقط درحالی تمایل بالا برای راه‌انداز lac دارد که CAP به DNA در انتهای بالادست راه‌انداز متصل باشد. CAP فقط درصورتی به DNA متصل می‌شود که در ارتباط با cAMP باشد. غلظت cAMP در سلول با پایین آمدن غلظت گلوکز افزایش می‌یابد. بنابراین اگر گلوکز وجود داشته باشد، حتی اگر لاکتوز هم در دسترس باشد، سلول ترجیح می‌دهد تا گلوکز را کاتابولیزه کند و خیلی کم آنزیم‌های مصرف‌کنندهٔ لاکتوز را تولید می‌کند.*

1- Catabolite activator protein
2- Rate

پرسش‌های مبحث ۱–۱۸

۱. اتصال کمک‌مهارکنندهٔ *trp* و القاکنندهٔ *lac* به پروتئین‌های مهارکننده، چگونه عملکرد مهاری و رونویسی را در هر کدام تغییر می‌دهد؟

۲. اتصال RNA پلی‌مراز، مهارکننده‌ها و فعال‌کننده‌ها به اپران *lac* را وقتی که گلوکز و لاکتوز، هر دو، به مقدار جزئی وجود دارند، توضیح دهید. تأثیر آن بر رونویسی چگونه خواهد بود؟

۳. یک جهش خاص در *E. coli*، اپراتور *lac* را به‌نحوی تغییر می‌دهد که مهارکنندهٔ فعال قادر به اتصال با آن نیست. این جهش چگونه تولید β ـ گالاکتوزیداز را تحت تأثیر قرار می‌دهد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

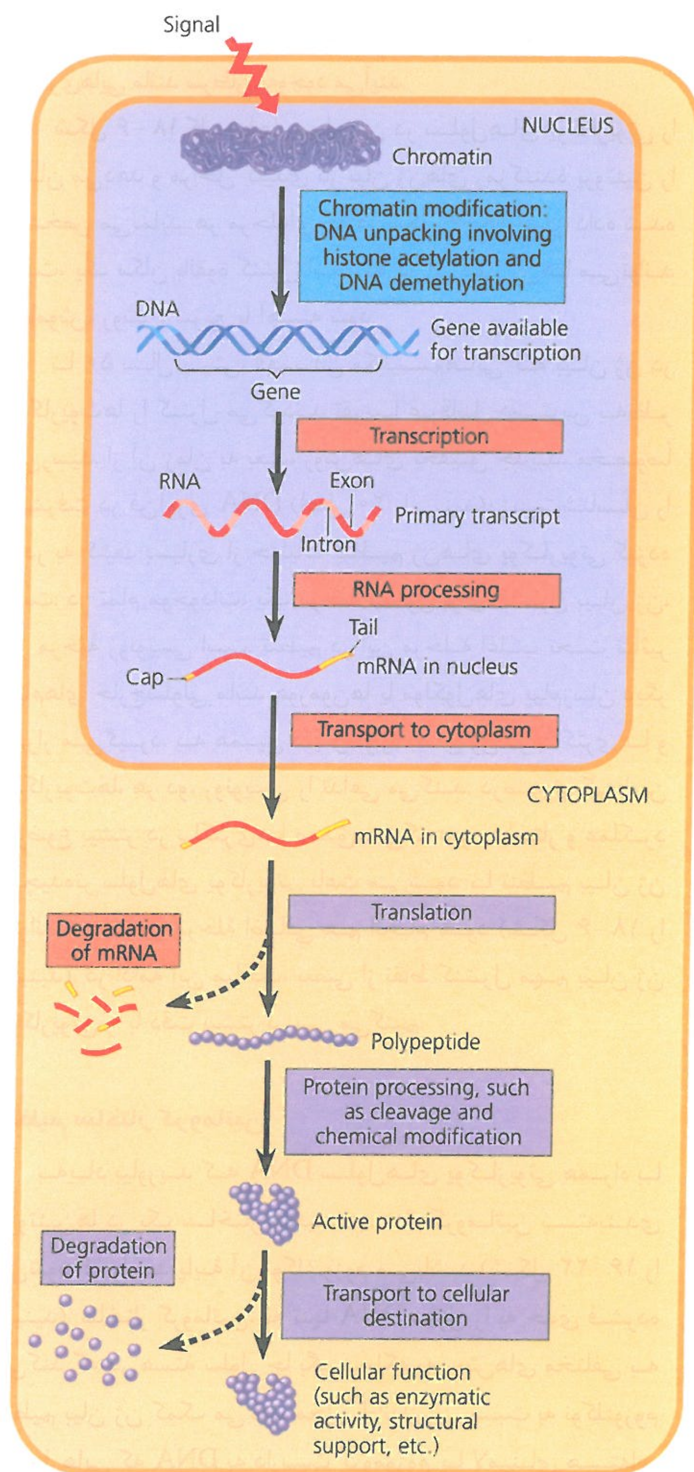
۱۸–۲ بیان ژن‌های یوکاریوتی در مراحل متعددی قابل تنظیم است

تمام جانداران، اعم از یوکاریوت و پروکاریوت، باید بیان ژن‌ها را در هر زمان خاص تنظیم کنند. هم موجودات تک‌سلولی و هم سلول‌های موجودات پرسلولی باید دائماً ژن‌هایشان را در پاسخ به تغییرات محیط داخلی و خارجی روشن یا خاموش کنند. تنظیم بیان ژن همچنین در اختصاصی کردن سلول‌ها در موجودات پرسلولی (موجوداتی که از انواع مختلف سلولی و هریک با نقش خاص خود، تشکیل شده‌اند) حائز اهمیت است. هر نوع سلول باید برنامهٔ بیان ژن خاص خود را کسب کند که در آن بعضی ژن‌ها بیان می‌شوند و بقیه بیان نخواهند شد.

بیان ژنی متفاوت

یک سلول معمولی انسان احتمالاً در هر زمان خاص، حدود ۲۰٪ ژن‌هایش را بیان می‌کند. سلول‌های به‌شدت تمایزیافته، مانند سلول‌های عضلانی و عصبی، حتی درصد کمتری از ژن‌هایشان را بیان می‌کنند. تقریباً تمام سلول‌های موجود در یک جاندار، ژنوم یکسانی دارند. (سلول‌های سیستم ایمنی یک استثنا هستند. که در فصل ۴۳ خواهید دید). به‌هرحال، زیرمجموعه‌ای از ژن‌ها که در هر سلول بیان می‌شود، اختصاصی است و به این سلول‌ها اجازه می‌دهد تا عملکرد خاص خود را انجام دهند. تفاوت بین سلول‌ها به‌علت وجود ژن‌های مختلف نیست بلکه به‌علت بیان ژنی متفاوت در آنها است.

عملکرد هر سلول (چه یک یوکاریوت تک‌سلولی، چه یک نوع سلول خاص از یک جاندار پرسلولی) بستگی به مجموعهٔ ژنی مناسبی دارد که در سلول بیان می‌شوند. عوامل رونویسی ژن‌ها باید ژن مناسب را در زمان مناسب شناسایی کنند، کاری که مانند پیدا



◄ شکل ۶- ۱۸ مراحلی از بیان ژن که در سلول‌های یوکاریوتی می‌توانند تنظیم شوند. *در این شکل، مستطیل‌های رنگی فرایندهایی را نشان می‌دهند که اغلب تنظیم می‌شوند. هر رنگ، نوع مولکولی را نشان می‌دهد که تحت تأثیر قرار می‌گیرد. (آبی = DNA، نارنجی = RNA، بنفش = پروتئین). غشای هسته که در سلول‌های یوکاریوتی، رونویسی و ترجمه را از هم جدا می‌کند، فرصتی برای کنترل بعد از رونویسی به‌صورت پردازش RNA فراهم می‌کند که در پروکاریوت‌ها وجود ندارد. به‌علاوه، یوکاریوت‌ها تنوع زیادی در مکانیسم‌های کنترل خود دارند که می‌توانند قبل از رونویسی و بعد از ترجمه هم انجام شوند. بیان هر ژنی لزوماً توسط تمام این مراحل کنترل نمی‌شود؛ مثلاً همهٔ پلی‌پپتیدها نمی‌شکنند.*

کردن سوزن در انبار کاه است! وقتی بیان ژن به‌طور اشتباه انجام شود، بیماری‌هایی مانند سرطان به‌وجود می‌آیند.

شکل ۶- ۱۸ کل مراحل بیان ژن در سلول‌های یوکاریوتی را نشان می‌دهد و مراحل کلیدی در بیان ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین را مشخص می‌نماید. هر مرحله‌ای که در شکل ۶- ۱۸ نشان داده شده است، یک مکان بالقوهٔ کنترل است که در آن بیان ژن‌ها می‌تواند خاموش، روشن، سریع یا آهسته شود.

تا ۵۰ سال پیش، فهمیدن مکانیسم‌هایی که بیان ژن در یوکاریوت‌ها را کنترل می‌کردند تقریباً غیرقابل دسترس به‌نظر می‌رسید. از آن زمان به بعد، روش‌های تحقیق جدید، مخصوصاً پیشرفت در فن‌آوری DNA (فصل ۲۰ را ببینید)، زیست‌شناسان را قادر به کشف بسیاری از جزئیات تنظیم ژن‌های یوکاریوتی کرده است. در تمام موجودات، یک مرحلهٔ معمول برای کنترل بیان ژن، در مرحلهٔ رونویسی است. تنظیم در این مرحله اغلب تحت تأثیر پیام‌های خارج‌سلولی مانند هورمون‌ها یا مولکول‌های پیام‌رسان دیگر قرار می‌گیرد. به همین دلیل، واژهٔ *بیان ژن* در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها، هر دو، رونویسی را تداعی می‌کند. درصورتی‌که این موضوع بیشتر در باکتری‌ها صدق می‌کند و ساختار و عملکرد پیچیده‌تر سلول‌های یوکاریوتی باعث می‌شود تا تنظیم بیان ژن بتواند در چندین مرحلهٔ اضافی هم انجام شود (شکل ۶- ۱۸ را ببینید). در ادامهٔ این مباحث، بعضی از نقاط کنترل مهم بیان ژن یوکاریوتی را با دقت بیشتر بررسی می‌کنیم.

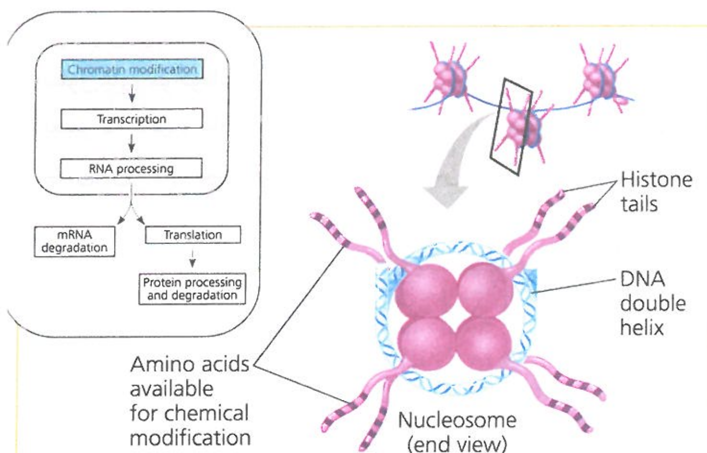
تنظیم ساختار کروماتین

به‌یاد بیاورید که DNA سلول‌های یوکاریوتی همراه با پروتئین‌ها در یک ساختار پیچیده به‌نام کروماتین بسته‌بندی می‌شود که واحد پایهٔ آن نوکلئوزوم می‌باشد (شکل ۲۲- ۱۶ را ببینید). ساختار کروماتین، نه تنها DNA سلول را به حدی فشرده می‌کند که در هستهٔ سلول جا بگیرد، بلکه به روش‌های مختلفی به تنظیم بیان ژن کمک می‌کند. محل راه‌انداز ژن، نسبت به نوکلئوزوم و محل‌هایی که DNA به داربست کروموزوم یا لامینای هسته‌ای می‌چسبد، می‌تواند رونویسی شدن ژن را تحت تأثیر قرار دهد. به‌علاوه، ژن‌های موجود در هتروکروماتین که به شدت فشرده است معمولاً بیان نمی‌شوند. اخیراً همان‌طورکه در تعداد زیادی از تحقیقات نشان داده شده است، انجام برخی تغییرات شیمیایی ویژه در هیستون‌ها و DNA می‌تواند هم ساختار کروماتین و هم بیان ژن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. در اینجا ما تأثیر این موارد را که با آنزیم‌های خاص انجام می‌شوند، بررسی می‌کنیم.

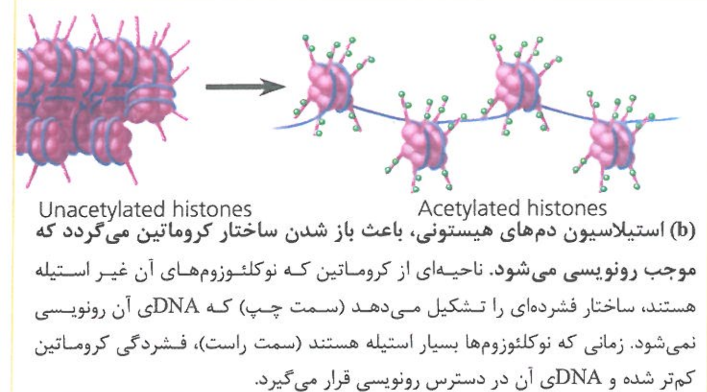
تغییر[1] هیستون‌ها

در مورد اینکه تغییرات شیمیایی روی هیستون‌ها (پروتئین‌هایی که DNA به دور آنها می‌پیچد و به‌صورت نوکلئوزوم‌ها بسته‌بندی می‌شود)، نقشی مستقیم در تنظیم رونویسی دارد، مدارک قطعی وجود دارد. انتهای N هر مولکول هیستون موجود در هر نوکلئوزوم، از نوکلئوزوم بیرون می‌زند (**شکل ۷a - ۱۸**). این دُم‌های هیستونی برای آنزیم‌های تغییردهندهٔ مختلف قابل دسترسی‌اند، آنزیم‌هایی که باعث حذف یا اضافه شدن گروه‌های شیمیایی خاص می‌شوند.

در **استیلاسیون هیستون**[2]، گروه‌های استیل ($-COCH_3$) به لیزین موجود در دم‌های هیستونی متصل می‌شوند. داِستیلاسیون، برداشت این گروه‌های استیلی است. وقتی لیزین‌ها استیله می‌شوند، بار مثبت آنها خنثی می‌شود و دم‌های هیستونی، دیگر به نوکلئوزوم‌های مجاور متصل نمی‌شوند (**شکل ۷b - ۱۸**).



(a) دم هیستونی از نوکلئوزوم بیرون زده است. آمینواسیدها در دنبالهٔ انتهای N برای تغییرات شیمیایی در دسترس قرار می‌گیرند.



(b) استیلاسیون دم‌های هیستونی، باعث باز شدن ساختار کروماتین می‌گردد که موجب رونویسی می‌شود. ناحیه‌ای از کروماتین که نوکلئوزوم‌های آن غیر استیله هستند، ساختار فشرده‌ای را تشکیل می‌دهد (سمت چپ) که DNAی آن رونویسی نمی‌شود. زمانی که نوکلئوزوم‌ها بسیار استیله هستند (سمت راست)، فشردگی کروماتین کم‌تر شده و DNAی آن در دسترس رونویسی قرار می‌گیرد.

شکل ۷- ۱۸ یک مثال ساده از دم‌های هیستونی و اثر استیلاسیون هیستون. *علاوه بر استیلاسیون، هیستون‌ها می‌توانند دچار تغییرات دیگری شوند که به تعیین شکل کروماتین در یک منطقهٔ DNA کمک می‌کنند.*

1- Modification
2- Histone acetylation

به‌یاد بیاورید که این اتصالات باعث تاخوردن کروماتین به یک شکل فشرده‌تر می‌شود بنابراین، اگر این اتصالات انجام نشود، کروماتین یک ساختار بازتر پیدا می‌کند. درنتیجه، پروتئین‌های دخیل در رونویسی راحت‌تر به ژن‌هایی که در مناطق استیله قرار دارند دسترسی پیدا می‌کنند. محققان نشان داده‌اند که آنزیم‌هایی که مسئول استیلاسیون یا داستیلاسیون هستند، در ارتباط با عوامل رونویسی می‌باشند که به راه‌اندازها وصل می‌شوند (شکل ۸- ۱۷ را ببینید). این مشاهدات نشان می‌دهند که آنزیم‌های استیلاسیون، شروع رونویسی را تسهیل می‌کنند و این‌کار را نه تنها از طریق بازآرایی ساختار کروماتین بلکه با متصل شدن به ماشین رونویسی و بنابراین «به کار گرفتن» آنها، انجام می‌دهند.

گروه‌های شیمیایی متعدد دیگری می‌توانند به‌صورت برگشت‌پذیر به آمینواسیدهای دم‌های هیستونی متصل شوند ـ برای مثال، گروه‌های متیل و فسفات. اضافه شدن گروه‌های متیل ($-CH_3$) به دم‌های هیستونی (متیلاسیون) باعث بیشتر شدن فشردگی کروماتین می‌شود. اضافه شدن گروه‌های فسفات به یک آمینواسید (فسفریلاسیون) که در کنار یک آمینواسید متیله‌شده قرار دارد، اثری متضاد ایجاد می‌کند. کشفیات اخیر در مورد این تغییرات و بسیاری تغییرات دیگر که روی دم‌های هیستونی انجام می‌شوند و باعث تغییر ساختار کروماتین و بیان ژن می‌گردند، فرضیهٔ رمز هیستونی[1] را مطرح کرده است. این فرضیه مطرح می‌کند که ترکیب خاصی از تغییرات روی هیستون‌ها، نه حالتی که فقط استیلاسیون انجام شود، ساختار کروماتین و از آنجا رونویسی را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

متیلاسیون DNA

درحالی‌که بعضی آنزیم‌ها دم‌های پروتئین‌های هیستونی را متیله می‌کنند، انواع مختلفی از آنزیم‌ها باعث متیلاسیون بازهای خاصی در خود DNA می‌شوند. در حقیقت، DNA بیشتر گیاهان، جانوران و قارچ‌ها بازهای متیله دارد که اکثراً از نوع سیتوزین هستند. DNA غیرفعال، مانند کروموزوم X غیرفعال پستانداران (شکل ۸- ۱۵ را ببینید)، عموماً نسبت به DNA فعالی که رونویسی می‌شود، بیشتر متیله شده است، با این وجود استثناهایی هم وجود دارند. مقایسهٔ ژن‌های مشابه در بافت‌های مختلف نشان می‌دهد که این ژن‌ها در بافت‌هایی که در آنها بیان نمی‌شوند، بیشتر متیله هستند. برداشت گروه‌های متیله می‌تواند برخی از این ژن‌ها را فعال کند.

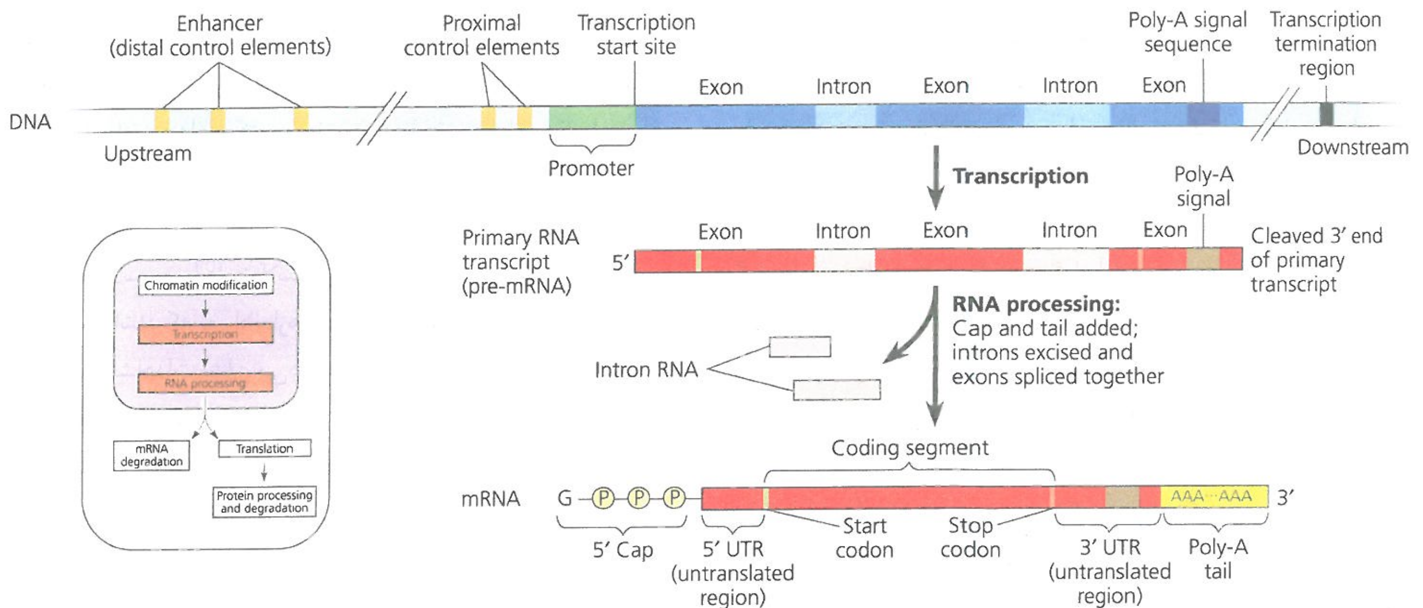
1- Histone code hypothesis

حداقل در بعضی گونه‌ها، متیلاسیون DNA، برای غیرفعال‌سازی طولانی‌مدت بعضی ژن‌ها و بنابراین تمایز سلولی طبیعی در جنین، ضروری است. برای مثال، تحقیقات نشان داده‌اند که متیلاسیون معیوب DNA که به علت فقدان آنزیم‌های مسئول متیلاسیون اتفاق می‌افتد، باعث تکوین غیرطبیعی جنین در گونه‌های مختلف مثل موش‌ها و گیاه آرابیدوپسیس[2] می‌شود. وقتی یک ژن متیله می‌شود، معمولاً در طول تقسیم سلولی هم به همان شکل باقی می‌ماند. وقتی یک رشتهٔ DNA متیله باشد، آنزیم‌های متیلاسیون بعد از هر دور همانندسازی DNA، رشتهٔ دختر را هم متیله می‌کنند. بنابراین الگوهای متیلاسیون منتقل می‌شوند و سلول‌های سازندهٔ بافت‌های تخصصی، چیزی را که در طول تکوین جنینی اتفاق افتاده است را حفظ می‌کنند. به‌علاوه، الگوی متیلاسیون که به این شکل حفظ می‌شود، مسئول **نقش‌پذیری ژنومی**[3] در پستانداران هم هست. زیرا متیلاسیون در ابتدای روند تکوین، به‌طور دائمی تنظیم می‌کند که الل‌های مادری یا پدریِ یک ژن خاص بیان شوند (فصل ۱۷-۱۵ را ببینید).

توارث اپی‌ژنتیک[4]

تغییرات کروماتین که تا الآن راجع به آن صحبت کردیم باعث تغییر در توالی DNA نمی‌شوند ولی با این حال به نسل‌های بعدی سلول‌ها انتقال می‌یابند. توارث صفاتی که از طریق مکانیسم‌هایی منتقل می‌شوند که مستقیماً در ارتباط با توالی نوکلئوتیدی نیستند، «**توارث اپی‌ژنتیک**» نامیده می‌شود. برعکسِ جهش‌هایی که روی DNA انجام می‌شوند و دائمی هستند، تغییرات روی کروماتین از طریق فرایندهایی که تا به حال کاملاً مشخص نشده‌اند، می‌توانند برگشت‌پذیر باشند. سیستم‌های مولکولی که باعث تغییرات کروماتین می‌شوند به‌صورت تنظیم‌شده با هم در تعاملند. برای مثال در دروزوفیلا مطالعات نشان داده‌اند که یک آنزیم تغییردهندهٔ هیستونی خاص، یک آنزیم متیلاسیون DNA را در یک منطقه به‌کار می‌گیرد و این دو آنزیم با هم در غیرفعال‌سازی دسته‌ای از ژن‌های خاص همکاری می‌کنند. به‌علاوه، محققان پروتئین‌هایی را کشف کرده‌اند که به DNA متیله‌شده متصل می‌شوند و آنزیم‌های داستیلاسیون هیستون‌ها را به‌کار می‌گیرند. بنابراین یک مکانیسم دوگانه، شامل متیلاسیون DNA و داستیلاسیون هیستون باعث مهار رونویسی می‌شود.

2- *Arabidopsis*
3- Genomic imprinting
4- Epigenetic inheritance



◀ **شکل ۸ - ۱۸ یک ژن یوکاریوتی و رونوشت آن.** *هر ژن یوکاریوتی یک راه‌انداز دارد، توالی‌ای که RNA پلی‌مراز به آن متصل می‌شود و با شروع رونویسی به فرودست حرکت می‌کند. تعدادی مناطق کنترلی (طلایی) در تنظیم شروع رونویسی دخیلند. این‌ها توالی‌هایی از DNA هستند که در نزدیک یا دور از راه‌انداز قرار می‌گیرند. مناطق کنترل دوردست می‌توانند با هم افزاینده‌ها را تشکیل دهند که در این شکل یکی از آنها نشان داده شده است. یک علامت پلی‌آدنیلاسیون (Poly-A) که در آخرین اگزون وجود دارد به توالی از RNA رونویسی می‌شود که نشان می‌دهد RNA باید در این مکان شکسته شود و دم Poly-A اضافه گردد. رونویسی ممکن است قبل از خاتمه، با رونویسی صدها نوکلئوتید بعد از سیگنال Poly-A ادامه پیدا کند. پردازش رونوشت RNAی اولیه به یک mRNA عملکردی سه مرحله دارد: اضافه شدن کلاهک ′۵، اضافه شدن دم پلی A و پیرایش. در سلول، کلاهک ′۵، به‌سرعت بعد از شروع رونویسی اضافه می‌شود. اتصال اگزون‌ها و اضافه شدن دم پلی A هم ممکن است درحالی‌که هنوز رونویسی به پایان نرسیده، انجام شوند (شکل ۱۰- ۱۷ را ببینید).*

محققان در حال گردآوری شواهد بیشتری برای اهمیت اطلاعات اپی‌ژنتیک در مقولهٔ تنظیم بیان ژن هستند. تنوع اپی‌ژنتیک به توضیح مواردی همچون به ارث رسیدن یک بیماری ژنتیکی مثل اسکیزوفرنی به یکی از دوقلوهای همسان و سالم ماندن دیگری کمک می‌کند. تغییر در الگوهای طبیعی متیلاسیون DNA در مکان‌هایی که باعث تغییر بیان ژن می‌شوند، در بعضی از سرطان‌ها دیده شده است. در آخر، آنزیم‌هایی که ساختار کروماتین را تغییر می‌دهند بخش‌های جدایی‌ناپذیر ماشین سلول‌های یوکاریوتی برای تنظیم رونویسی هستند.

تنظیم شروع رونویسی

آنزیم‌های تغییردهندهٔ کروماتین، یک کنترل اولیه بر بیان ژن اعمال می‌کنند زیرا باعث می‌شوند یک منطقه از DNA بتواند بیشتر یا کمتر به ماشین رونویسی متصل شود. وقتی کروماتین یک ژن به‌طور مطلوب برای بیان شدن تغییر یافت، مرحلهٔ بعدی تنظیم بیان ژن، شروع رونویسی است. همانند باکتری‌ها، در یوکاریوت‌ها هم شروع رونویسی شامل عملکرد پروتئین‌هایی است که به DNA متصل می‌شوند و اتصال RNA پلی‌مراز به آن را تسهیل یا مهار می‌کنند. ولی این فرایند در یوکاریوت‌ها پیچیده‌تر است. قبل از بررسی چگونگی کنترل رونویسی یوکاریوت‌ها بیایید ساختار یک ژن یوکاریوتی معمول و رونویسی آن‌را مرور کنیم.

ساختار یک ژن یوکاریوتی معمولی

یک ژن یوکاریوتی و قطعاتی از DNA که آن را کنترل می‌کنند، در **شکل ۸- ۱۸** نشان داده شده، که چیزهایی را که در فصل ۱۷ در مورد ژن‌های یوکاریوتی آموخته‌اید، بسط می‌دهد. به‌یاد آورید که دسته‌ای از پروتئین‌ها به‌نام «کمپلکس شروع رونویسی»[1] روی توالی راه‌انداز واقع در انتهای بالادست ژن، تشکیل می‌شوند. سپس یکی از این پروتئین‌ها، یعنی RNA پلی‌مراز II، اقدام به رونویسی از ژن می‌کند و یک رونوشت اولیه (pre-mRNA) اولیه می‌سازد. پردازش RNA، شامل اضافه کردن کلاهک ′۵ و دم پلی A و پیرایش اینترون‌ها، برای ایجاد یک RNA پیک بالغ است. بیشتر ژن‌های یوکاریوتی دارای چندین **قطعهٔ کنترلی** هستند، یعنی قطعاتی از DNA که از طریق متصل شدن به پروتئین‌های خاص باعث تنظیم رونویسی می‌شوند. این قطعات کنترلی و پروتئین‌هایی که به آنها متصل می‌شوند برای تنظیم دقیق بیان ژن در سلول‌های مختلف اساسی هستند.

1- Transcription initiation complex

نقش عوامل رونویسی

برای شروع رونویسی، RNA پلی‌مراز یوکاریوتی به پروتئین‌هایی به‌نام عوامل رونویسی نیاز دارد. بعضی از عوامل رونویسی مانند آنهایی که در شکل ۸- ۱۷ نشان داده شده‌اند، برای رونویسی **تمام** ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین، ضروری هستند. بنابراین، آنها اغلب *عوامل رونویسی عمومی* نامیده می‌شوند. فقط تعداد کمی از عوامل رونویسی عمومی به‌طور مستقل به یک توالی DNA مانند جعبهٔ TATA در راه‌انداز وصل می‌شوند. درحالی‌که بقیه اساساً به پروتئین‌های دیگر و RNA پلی‌مراز II متصل می‌شوند. میانکنش پروتئین‌ها برای شروع رونویسی در یوکاریوت‌ها ضروری است. تنها درصورتی‌که کمپلکس شروع رونویسی به‌طور کامل تشکیل شود، پلی‌مراز قادر است تا در طول رشتهٔ الگوی DNA حرکت کند و یک رشتهٔ مکمل RNA بسازد.

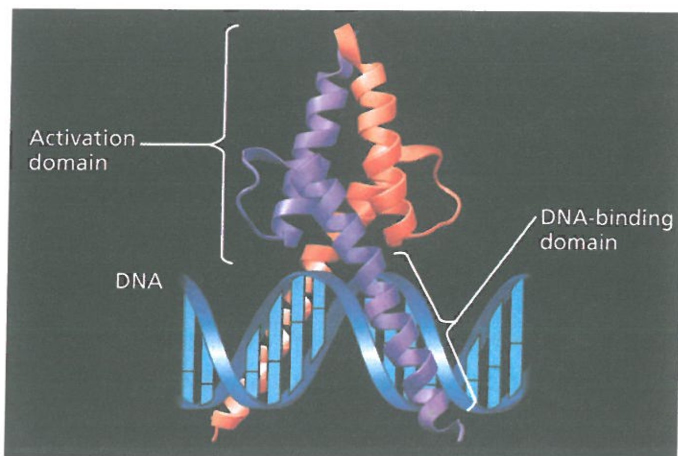
میانکنش عوامل رونویسی عمومی و RNA پلی‌مراز II با راه‌انداز، معمولاً منجر به تولید مقادیر کمی از رونوشت‌های RNA می‌شود. در سلول‌های یوکاریوتی، سطوح بالای رونویسی از ژن‌های خاص، در زمان و مکان مناسب، وابسته به میانکنش اجزای کنترلی با یک دستهٔ دیگر از پروتئین‌هاست که «*عوامل رونویسی اختصاصی*[1]» نامیده می‌شوند.

افزاینده‌ها و عوامل رونویسی اختصاصی

همان‌طورکه در شکل ۸- ۱۸ می‌بینید، بعضی از عناصر تنظیمی که «عوامل تنظیمی نزدیک»[2] نامیده می‌شوند، نزدیک به راه‌انداز قرار دارند. (با اینکه بعضی از زیست‌شناسان این قطعات را جزئی از راه‌انداز به حساب می‌آورند، ما آنها را جداگانه در نظر می‌گیریم). «عوامل تنظیمی دوردست[3]» که «**افزاینده**[4]» نامیده می‌شوند، ممکن است هزاران نوکلئوتید در بالادست یا پایین‌دست یک ژن یا حتی درون یک اینترون قرار بگیرند. هر ژن خاص ممکن است افزاینده‌های متعددی داشته باشد که در زمان‌های مختلف یا در سلول‌ها و جایگاه‌های مختلفی از یک موجود فعال باشند. ولی هر افزاینده فقط با همان ژن، و نه ژن دیگری، در ارتباط است.

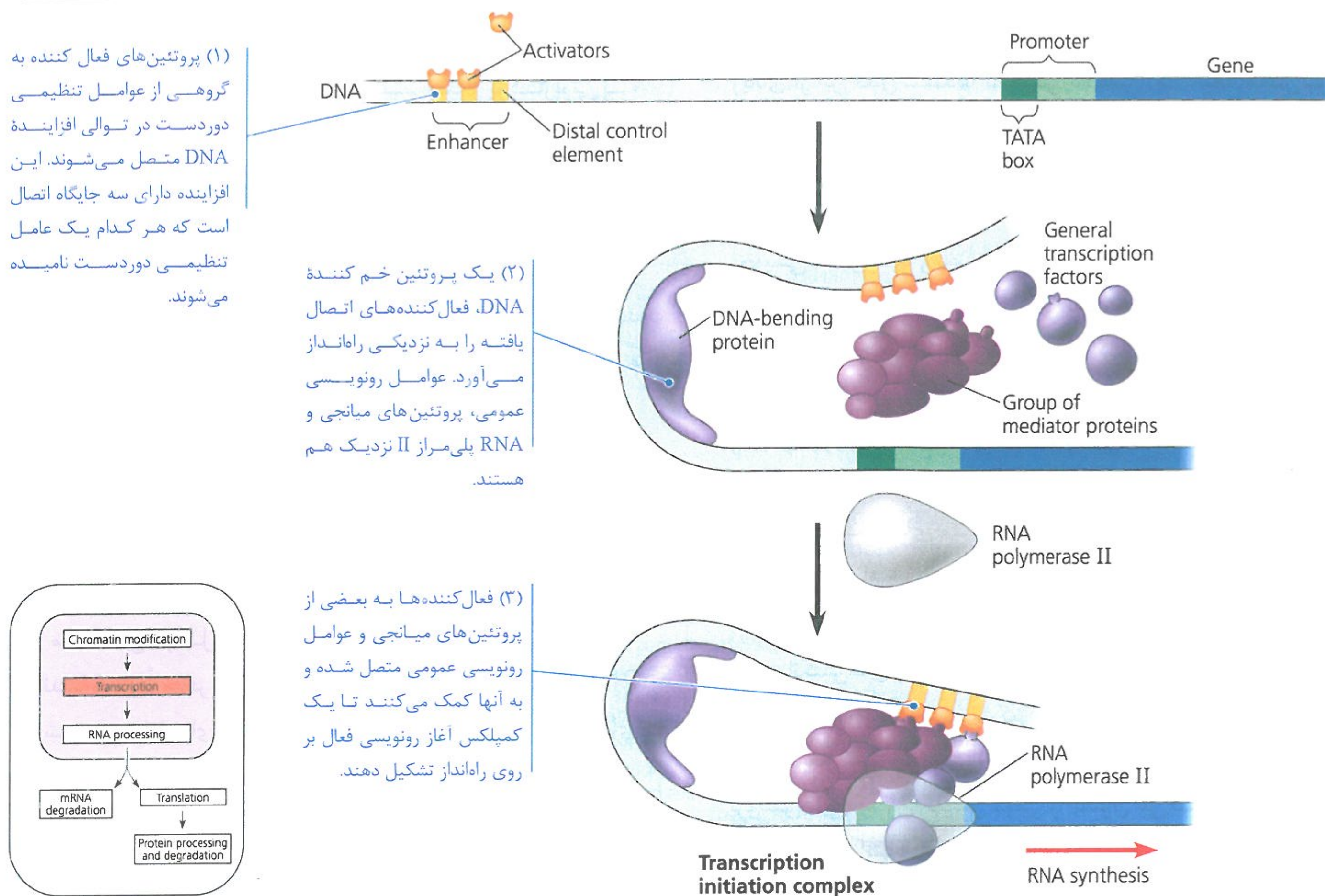
در یوکاریوت‌ها، سرعت بیان ژن می‌تواند از طریق متصل شدن پروتئین‌های فعال‌کننده یا مهارکننده به عوامل تنظیمی افزاینده، به شدت افزایش یا کاهش پیدا کند. صدها فعال‌کنندهٔ رونویسی در یوکاریوت‌ها کشف شده‌اند. ساختار یکی از آنها در شکل ۹–۱۸ نشان داده شده است. محققان دو قطعهٔ ساختمانی مشترک را در تعداد زیادی از این فعال‌کننده‌ها تشخیص داده‌اند: یک دنبالهٔ متصل‌شونده به DNA ـ قسمتی از ساختار سه‌بعدی پروتئین که به DNA متصل می‌شود ـ و یک یا چند دنبالهٔ فعال‌کننده. دُمین‌های فعال‌کننده، به پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ دیگر یا اجزای ماشین رونویسی متصل شده و باعث تسهیل میانکنش‌های پروتئین ـ پروتئین می‌شوند که در آخر منجر به رونویسی یک ژن خاص می‌شود.

شکل ۱۰- ۱۸ نشان می‌دهد که چگونه متصل شدن فعال‌کننده‌ها به یک افزاینده که در محل دوردستی نسبت به راه‌انداز قرار گرفته است، می‌تواند رونویسی را تحت تأثیر قرار دهد. به‌نظر می‌رسد، خم شدن DNA از طریق پروتئین‌ها باعث می‌شود تا فعال‌کننده‌های متصل به DNA، در تماس با گروهی از پروتئین‌ها به نام «*پروتئین‌های میانجی*[5]» قرار بگیرند. این پروتئین‌ها (پروتئین‌های میانجی)، با پروتئین‌های راه‌انداز میانکنش می‌دهند. این میانکنش‌های پروتئین ـ پروتئین چندگانه باعث می‌شود تا کمپلکس شروع رونویسی تشکیل شده و روی راه‌انداز جای بگیرد. یک مطالعه که از این مدل حمایت می‌کند نشان می‌دهد که پروتئین‌هایی که ژن گلوبین موش را کنترل می‌کنند، هم با راه‌انداز ژن و هم با افزاینده‌ای که ۵۰,۰۰۰ نوکلئوتید در بالادست ژن قرار گرفته است، در تماسند. واضح است که این دو منطقه از DNA باید به شکل کاملاً اختصاصی کنار هم قرار بگیرند تا این اتصال برقرار شود.



◀ شکل ۹–۱۸ **ساختار MyoD، فاکتور رونویسی ویژه‌ای که به عنوان یک فعال کننده عمل می‌کند.** *پروتئین MyoD از دو زیر واحد (ارغوانی و عنابی) تشکیل شده است که دارای مارپیچ‌های آلفای بسیاری است. هر زیر واحد دارای یک دنباله‌ی اتصال به DNA و یک دنبالهٔ فعال‌سازی (برای زیر واحد ارغوانی با پرانتز نشان داده شده است) است. دنباله فعال‌سازی دارای جایگاه‌های اتصالی برای سایر زیر واحدها و سایر پروتئین‌ها است. MyoD در تکوین ماهیچه جنین در مهره‌داران نقش دارد و در مبحث ۴-۱۸ بیشتر شرح داده خواهد شد.*

1- Specific transcription factors
2- Proximal control elements
3- Distal control elements
4- Enhancers
5- Mediator proteins



◀ **شکل ۱۰-۱۸ یک مدل برای عملکرد افزاینده‌ها و فعال‌کننده‌های رونویسی.** *خم شدن DNA به‌وسیلهٔ یک پروتئین به افزاینده‌ها امکان می‌دهد تا روی راه‌اندازی که صدها یا حتی هزاران نوکلئوتید دورتر است اثر کنند. فاکتورهای رونویسی اختصاصی به‌نام فعال‌کننده‌ها به توالی DNAی افزاینده و سپس به گروهی از پروتئین‌های میانجی متصل می‌شوند. این پروتئین‌ها نیز به فاکتورهای رونویسی عمومی متصل می‌شوند و کمپلکس شروع رونویسی شکل می‌گیرد. این میانکنش‌های پروتئین - پروتئین باعث می‌شوند تا کمپلکس به درستی روی راه‌انداز قرار بگیرد و ساخت RNA شروع شود. در اینجا فقط یک افزاینده (با سه قطعهٔ کنترلی نارنجی) نشان داده شده است. ولی یک ژن ممکن است افزاینده‌های متعددی داشته باشد که در زمان‌های مختلف یا در انواع سلولی مختلف عمل کنند.*

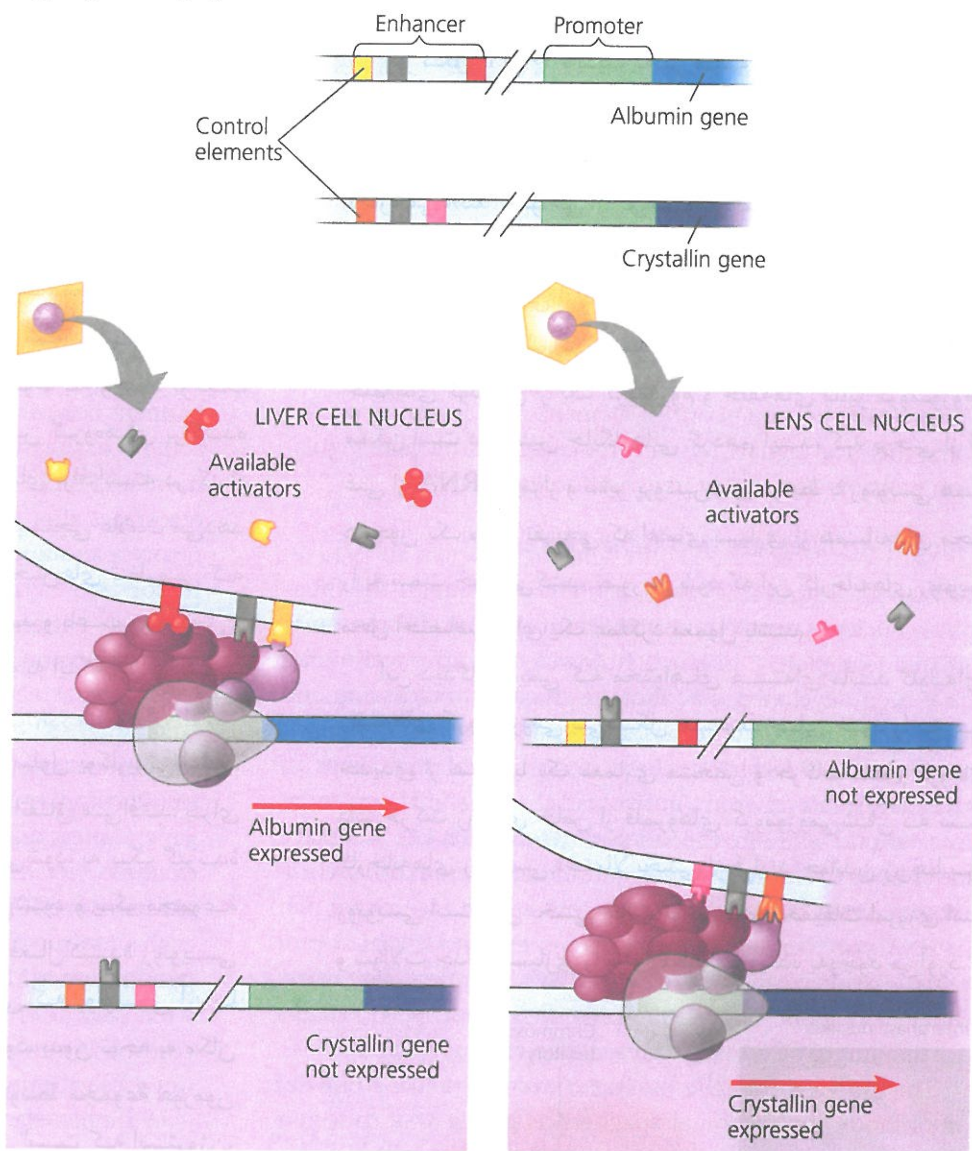
عوامل رونویسی اختصاصی که به‌عنوان مهارکننده عمل می‌کنند می‌توانند بیان ژن را از راه‌های مختلفی سرکوب کنند. بعضی از مهارکننده‌ها به‌طور مستقیم به قطعات کنترلی DNA متصل می‌شوند (در افزاینده‌ها یا مکان‌های دیگر) و از اتصال فعال‌کننده‌ها جلوگیری به‌عمل می‌آورند. همچنین در بعضی از موارد، حتی اگر فعال‌کننده‌ها متصل باشند، رونویسی را خاموش می‌کنند. مهارکننده‌های دیگر اتصال فعال‌کننده‌ها به پروتئین‌هایی که مسئول اتصال این فعال‌کننده‌ها به DNA هستند را مهار می‌کنند.

علاوه بر تأثیر مستقیم برروی رونویسی، بعضی از فعال‌کننده‌ها و مهارکننده‌ها به‌طور غیر مستقیم از طریق تأثیر برروی ساختار کروماتین، عمل می‌کنند. مطالعاتی که روی مخمرها و سلول‌های پستانداران انجام شده‌اند نشان می‌دهند که بعضی از فعال‌کننده‌ها از طریق به‌کارگیری پروتئین‌هایی که هیستون‌های کنار راه‌اندازهای ژن‌های خاصی را استیله می‌کنند، باعث انجام رونویسی می‌شوند (شکل ۷-۱۸ را ببینید). به‌همین شیوه، بعضی از مهارکننده‌ها باعث به‌کارگیری پروتئین‌های داستیله‌کنندهٔ هیستون می‌شوند و رونویسی را کاهش می‌دهند، پدیده‌ای که «خاموش‌سازی[1]» نامیده می‌شود. درحقیقت به‌نظر می‌رسد که به‌کارگیری پروتئین‌های تعدیل‌کنندهٔ کروماتین شایع‌ترین مکانیسم مهاری در یوکاریوت‌ها باشد.

1- silencing

تنظیم ترکیبیِ فعال‌سازی ژن

در یوکاریوت‌ها، کنترل دقیق رونویسی عمدتاً به اتصال فعال‌کننده‌ها به بخش‌های تنظیمی DNA بستگی دارد. با درنظر گرفتن تعداد زیاد ژن‌هایی که در یک سلول معمولی جانوری یا گیاهی باید تنظیم شوند، تعداد توالی‌های نوکلئوتیدی که در مناطق تنظیمی قرار دارند، بسیار کم است. چیزی در حدود یک دو جین توالی نوکلئوتیدی در بخش‌های تنظیمی ژن‌های مختلف، ظاهر می‌شوند. به‌طور میانگین، هر افزاینده از حدود ده بخش تنظیمی تشکیل شده است که هریک فقط می‌توانند به یک یا دو عامل اختصاصی رونویسی متصل شوند. وجود «ترکیبی[1]» خاص از بخش‌های تنظیمی در یک افزایندهٔ مربوط به یک ژن، نسبت به وجود یک بخش تنظیمی منفرد، اهمیت بیشتری در تنظیم رونویسی ژن دارد. با وجود اینکه فقط یکی دو جین توالی‌های بخش تنظیمی وجود دارد، تعداد بسیار زیادی از ترکیب‌ها بین این بخش‌ها امکان‌پذیر است. یک ترکیب خاص از بخش‌های تنظیمی تنها درصورتی قادر است رونویسی را فعال کند که پروتئین‌های فعال‌کنندهٔ مناسب وجود داشته باشند، چیزی که ممکن است در یک زمان معین در طول تکوین و در یک نوع سلول خاص اتفاق بیافتد. **شکل ۱۱- ۱۸** نشان می‌دهد که چگونه ترکیب مختلف تعداد کمی بخش تنظیمی، باعث تنظیم اختصاصی رونویسی در دو نوع سلول می‌شود.



(a) سلول کبدی. ژن آلبومین بیان می‌شود و ژن کریستالین بیان نمی‌شود.

(b) سلول عدسی. ژن کریستالین بیان می‌شود و ژن آلبومین بیان نمی‌شود.

▶ شکل ۱۱- ۱۸ **رونویسی اختصاصی برای هر نوع سلول.** *هر دو نوع سلول کبدی و عدسی (چشم)، ژن‌های ساخت آلبومین و کریستالین را دارند ولی فقط سلول‌های کبدی آلبومین می‌سازند و فقط سلول‌های عدسی کریستالین تولید می‌کنند. عوامل رونویسی اختصاصی که در یک سلول تولید می‌شوند، تعیین می‌کنند که چه ژن‌هایی بیان شوند. در این مثال، ژن‌های آلبومین و کریستالین در بالا نشان داده شده‌اند و هریک دارای یک افزاینده با سه بخش تنظیمی متفاوت هستند. با اینکه افزاینده‌های این دو ژن، یک بخش تنظیمی مشترک (خاکستری) دارند، هر افزاینده یک ترکیب از بخش‌های تنظیمی منحصربه‌فرد دارد. تمام فعال‌کننده‌های مورد نیاز برای بیان سطح بالای ژن آلبومین فقط در سلول‌های کبدی (a) وجود دارند، درحالی‌که فعال‌کننده‌های مورد نیاز برای ژن کریستالین فقط در سلول‌های عدسی (b) ظاهر می‌شوند. برای ساده‌کردن مطلب، ما فقط نقش فعال‌کننده‌ها را در این شکل نشان داده‌ایم ولی بودن یا نبودن مهارکننده‌ها هم رونویسی را در هر نوع سلول خاص تغییر می‌دهد.*

؟ افزایندهٔ ژن آلبومین را در هر سلول توصیف کنید. توالی نوکلئوتیدی این افزاینده در سلول کبدی و سلول عدسی چه تفاوتی با هم دارند؟

1- Combination

کنترل هماهنگ ژن‌ها در یوکاریوت‌ها

سلول یوکاریوتی چگونه با ژن‌های مربوط به عملکردهای مرتبط که باید به‌صورت همزمان روشن یا خاموش شوند مواجه می‌شود؟ قبلاً در این فصل آموختید که در باکتری‌ها کنترل همزمان این ژن‌ها اغلب با جمع شدن آنها در یک اپران انجام می‌پذیرد، که با یک راه‌انداز واحد تنظیم می‌شود و به یک مولکول RNA پیک واحد ترجمه می‌گردد. بنابراین ژن‌ها با هم بیان می‌شوند و پروتئین‌های رمزشده با هم تولید می‌گردند. اپران‌هایی که به این شکل کار کنند در سلول‌های یوکاریوتی یافت نشده‌اند که البته چند استثنا وجود دارد. ژن‌های یوکاریوتی که همزمان بیان می‌شوند، مانند ژن‌های رمزکنندهٔ آنزیم‌های یک مسیر متابولیک، معمولاً به‌صورت پراکنده در کروموزوم‌های مختلف یافت می‌شوند. در این موارد، به‌نظر می‌رسد که بیان هماهنگ ژن‌ها مربوط به وجود ترکیب خاصی از بخش‌های تنظیمی در هر ژن در این گروه‌های پراکنده باشد. وجود این قطعات، شبیه وجود پرچم‌های برافراشته در کنار تعداد کمی از صندوق‌های پست است که به پستچی علامت می‌دهد تا آن صندوق‌ها را چک کند. فعال‌کننده‌ها، بخش‌های تنظیمی که به آنها متصل می‌شوند را تشخیص می‌دهند و باعث رونویسی و راه‌اندازی همزمان ژن‌ها می‌شوند، بدون توجه به اینکه این ژن‌ها در کجای ژنوم قرار دارند.

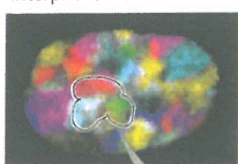
کنترل هماهنگ ژن‌های پراکنده در یک سلول یوکاریوتی اغلب در پاسخ به پیام‌های شیمیایی بیرون سلول اتفاق می‌افتد. برای مثال، یک هورمون استروئیدی، وارد سلول می‌شود، به یک گیرندهٔ پروتئینی داخل‌سلولی خاص متصل می‌شود و یک مجموعهٔ هورمون-گیرنده تشکیل می‌دهد که به‌عنوان فعال‌کنندهٔ رونویسی عمل می‌کند (شکل ۹- ۱۱ را ببینید). هر ژنی که رونویسی آن با یک هورمون استروئیدی خاص تحریک می‌شود، بدون توجه به مکان کروموزومی‌اش، یک بخش تنظیمی دارد که توسط مجموعهٔ هورمون - گیرنده شناسایی می‌شود. این همان روشی است که استروژن، گروهی از ژن‌های محرک تقسیم سلولی را در سلول‌های رحم فعال می‌کند و رحم را برای حاملگی آماده می‌سازد.

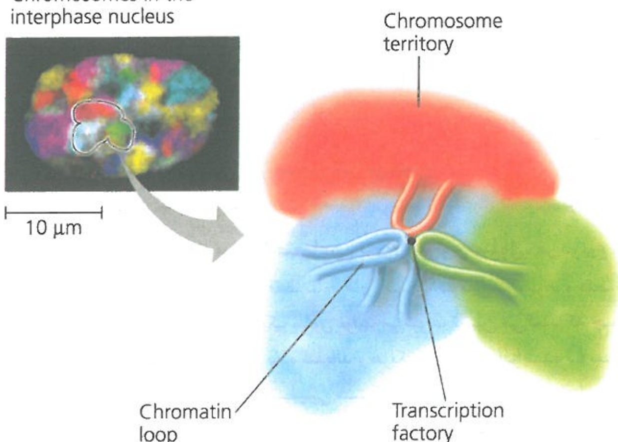
بسیاری از مولکول‌های پیام‌رسان، مانند هورمون‌های غیراستروئیدی و عوامل رشد، به گیرنده‌های موجود در سطح سلول متصل می‌شوند و هیچگاه وارد سلول نمی‌گردند. این مولکول‌ها بیان ژن را به‌طور غیرمستقیم کنترل می‌کنند. زیرا باعث راه‌اندازی مسیرهای انتقال پیام می‌شوند که به فعال‌سازی فعال‌کننده‌ها یا مهارکننده‌های رونویسی می‌انجامد (شکل ۱۵- ۱۱ را ببینید). اساس تنظیم هماهنگ، مشابه مثال هورمون استروئیدی است: ژن‌هایی که بخش‌های تنظیمی یکسان دارند با پیام‌های شیمیایی یکسان فعال می‌شوند. سیستم‌هایی که مسئول تنظیم هماهنگ ژن‌ها هستند احتمالاً در اوایل تاریخ تکامل به‌وجود آمده‌اند و با همانندسازی و توزیع بخش‌های تنظیمی در ژنوم، تکامل پیدا کرده‌اند.

معماری هسته‌ای و بیان ژن

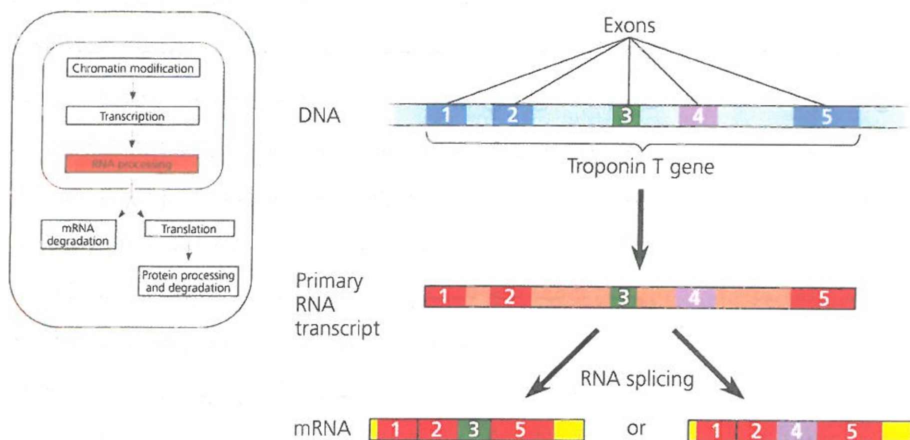
در شکل ۲۳-۱۶ دیدید که در هستهٔ اینترفازی، هر کروموزوم یک قلمرو مجزا را اشغال می‌کند، اما این کروموزوم‌ها کاملاً جدا از هم نیستند. اخیراً روش‌هایی به‌وجود آمده‌اند که به پژوهشگران اجازه می‌دهند تا نواحی از کروموزوم را مشخص کنند که در طی اینترفاز با یکدیگر در ارتباطند. این مطالعات نشان می‌دهند که حلقه‌های کروماتین از قلمروهای مجزای کروموزومی به سمت جایگاه‌های خاصی در هسته کشیده شده‌اند (**شکل ۱۲-۱۸**). حلقه‌های گوناگون از یک کروموزوم و حلقه‌های سایر کروموزوم‌ها، ممکن است در چنین جایگاه‌هایی گردهم آیند، که برخی از آنها غنی از RNA پلی‌مراز و سایر پروتئین‌های مرتبط با رونویسی هستند. همچون یک مرکز تفریحی که اعضای بسیاری از همسایه‌های مختلف را به سمت خود می‌کشد، تصور می‌شود که این *کارخانه‌های رونویسی*، محل اختصاصی برای یک عملکرد معمول باشند.

این دیدگاه قدیمی که محتواهای هسته‌ای مانند گلوله‌ای از رشته‌های کروموزومیِ بی‌شکل هستند، جای خود را به مدل جدیدی از هسته با یک معماری مشخص و حرکات منظم کروماتین داد. حرکت ژن‌های خاص از قلمروهای کروموزومی‌شان به سمت کارخانه‌های رونویسی احتمالاً بخشی از فرایند خواندن ژن‌ها برای رونویسی است. این بخشی جالب توجه برای تحقیقات امروزی است و سؤالات جذاب بسیاری را برای مطالعات آینده به‌وجود می‌آورد.





▶ **شکل ۱۲-۱۸ میانکنش‌های کروموزومی در هستهٔ اینترفازی.** *اگرچه هر کروموزوم دارای قلمرو مختص به خود است (شکل ۲۳-۱۶ را ببینید)، حلقه‌های کروماتینی ممکن است به سایر نقاط هسته کشیده شوند. برخی از این نقاط، کارخانه‌های رونویسی هستند که توسط چند حلقهٔ کروماتینی از یک کروموزوم (حلقه‌های آبی) یا سایر کروموزوم‌ها (حلقه‌های قرمز و سبز) اشغال شده‌اند.*



شکل ۱۳- ۱۸ پیرایش متناوب RNA مربوط به ژن تروپونین T. *رونوشت اولیهٔ این ژن می‌تواند به چند شکل پیرایش شود و مولکول‌های mRNA متفاوتی ایجاد نماید. توجه کنید که یک mRNA با اگزون ۳ و دیگری با اگزون ۴ به پایان رسیده است. این دو mRNA به دو پروتئین عضلانی مختلف ولی مرتبط ترجمه می‌شوند.*

مکانیسم‌های مربوط به تنظیم بعد از رونویسی

تنها رونویسی نیست که بیان ژن را تشکیل می‌دهد. بیان یک ژن رمزکنندهٔ پروتئین، از طریق مقدار پروتئین عملکردی که سلول تولید می‌کند، اندازه‌گیری می‌شود. اتفاقات زیادی از زمان ساخت رونوشت RNA و فعال‌سازی پروتئین در سلول می‌افتد. محققان در حال کشف فرایندهای تنظیمی بیشتری هستند که در مراحل مختلفی بعد از رونویسی اتفاق می‌افتند (شکل ۶- ۱۸ را ببینید). این فرایندها به سلول اجازه می‌دهند تا در پاسخ به تغییرات محیطی، بیان ژن خود را به‌سرعت تنظیم کند بدون اینکه الگوهای رونویسی خود را تغییر دهد. در اینجا ما چگونگی تنظیم بیان ژن بعد از رونویسی شدن آن را بررسی می‌کنیم.

پردازش *RNA*

پردازش RNA در هسته و فرستادن RNA بالغ به سیتوپلاسم، فرصت‌های متعددی برای تنظیم بیان ژن فراهم می‌کند که در پروکاریوت‌ها وجود ندارند. یک مثال برای تنظیم در مرحلهٔ پردازش RNA، «**پیرایش متناوب RNA**[1]» است، که در آن بسته به اینکه چه قطعاتی از RNA به‌عنوان اگزون و کدام‌ها به‌عنوان اینترون درنظر گرفته شوند RNAهای پیک مختلفی از یک رونوشت اولیه تشکیل می‌شوند. پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ مختص هر نوع سلول، با اتصال به توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ رونوشت اولیه، توالی‌های اینترون ـ اگزون خاص را انتخاب می‌کنند.

یک مثال از پیرایش متناوب RNA که در **شکل ۱۳- ۱۸** نشان داده شده است مربوط به ژن تروپونین T می‌باشد که دو پروتئین مختلف (ولی مرتبط) را رمز می‌کند. بعضی ژن‌های دیگر، تولید محصولات متنوع بیشتری را امکان‌پذیر می‌کنند. برای مثال، محققان یک ژن را در مگس سرکه کشف کرده‌اند که آنقدر اگزون‌های با پیرایش متناوب دارد که می‌تواند حدود ۱۹,۰۰۰ پروتئین مختلف تولید کند. حداقل ۱۷,۵۰۰ (۹۴٪) نوع از این mRNAهای مختلف واقعاً سنتز می‌شوند. ظاهراً هر سلول عصبی در حال تکوین در این مگس یک شکل منحصربه‌فرد از این پروتئین را می‌سازد، که مانند یک نشان شناسایی در سطح سلول عمل می‌کند.

واضح است که پیرایش متفاوت RNA می‌تواند مخزن ژنوم یوکاریوتی را به‌طور جالب توجهی گسترش دهد. در حقیقت، هنگامی که حدود ۱۰ سال قبل ژنوم انسان توالی‌یابی شد و ژن‌های انسانی شمارش شدند، پیرایش متفاوت به عنوان یک توضیح برای تعداد کم ژن‌های انسانی پیشنهاد شد. معلوم شد که تعداد ژن‌های انسانی مشابه تعداد ژن‌های کرم خاکی، گیاه خردل یا شقایق دریایی است. این کشف سؤالاتی مطرح کرد راجع به اینکه چه چیزی موجب مورفولوژی (شکل خارجی) پیچیده‌تر انسان‌ها می‌شود. معلوم شده است که احتمالاً ۷۵-۱۰۰٪ ژن‌های انسانی که دارای چندین اگزون هستند، متحمل پیرایش متفاوت می‌شوند. بنابراین، پیرایش متفاوت، تعداد پروتئین‌های ممکن انسانی را بسیار افزایش می‌دهد، که احتمالاً با پیچیدگی شکل انسان همبستگی بهتری دارد.

تجزیهٔ *RNA* پیک

طول عمر مولکول RNA پیک در سیتوپلاسم برای تعیین الگوی ساخت پروتئین در سلول مهم است. RNAهای پیک باکتریایی معمولاً در عرض چند دقیقه از ساختشان توسط آنزیم‌ها تجزیه می‌شوند. این طول عمر کوتاه RNA پیک، یکی از دلایلی است که به باکتری امکان می‌دهد تا در پاسخ به تغییرات محیطی،

1- Alternative RNA splicing

به‌سرعت الگوی ساخت پروتئین خود را تغییر دهد. برعکس، RNAهای پیک موجود در یوکاریوت‌های پرسلولی معمولاً برای ساعت‌ها، روزها و یا حتی هفته‌ها باقی می‌ماند. برای مثال mRNAهای مربوط به پلی‌پپتیدهای هموگلوبین (α - گلوبین و β - گلوبین) در گلبول‌های قرمز درحال تکوین، به‌طور غیرمعمولی پایدارند و مکرراً در این سلول‌ها ترجمه می‌شوند.

توالی‌های نوکلئوتیدی که تعیین می‌کنند چه مدت زمانی mRNA دست‌نخورده باقی بماند، معمولاً در قسمت ترجمه‌نشونده (UTR)[1] واقع در انتهای ′۳ مولکول قرار دارند (شکل ۸- ۱۸ را ببینید). در یک مطالعه، محققان این نوع توالی را از mRNA کم‌عمر یک فاکتور رشد، به انتهای ′۳ یک mRNAی پایدار گلوبین منتقل کردند. نتیجه این بود که mRNA گلوبین سریعاً تجزیه شد.

در طول سال‌های اخیر، مکانیسم‌های دیگری که باعث تجزیه یا منع بیان مولکول‌های mRNA می‌شوند، روشن شده‌اند. بعضی از این مکانیسم‌ها شامل گروهی از RNAهای تازه کشف شده می‌باشند که بیان ژن را در مراحل مختلفی تنظیم می‌کنند. ما بعداً در مورد آنها در این فصل بحث خواهیم کرد.

شروع ترجمه

ترجمه فرصت دیگری برای تنظیم بیان ژن فراهم می‌کند. این تنظیم به‌طور معمول در مرحلهٔ شروع ترجمه اتفاق می‌افتد (شکل ۱۸- ۱۷ را ببینید). شروع ترجمهٔ بعضی از mRNAها می‌تواند به‌وسیلهٔ پروتئین‌های تنظیم‌کننده مهار شود. این پروتئین‌ها به توالی‌ها یا ساختمان‌های خاصی در قسمت ترجمه‌نشدهٔ انتهای ′۵ یا ′۳ (′5 or ′3 UTR) مولکول mRNA متصل می‌شوند و از اتصال ریبوزوم‌ها جلوگیری می‌کنند. (از فصل ۱۷ بیاد آورید که هر دوی کلاهک ′۵ و دم‌پلی A برای اتصال ریبوزوم‌ها مهم هستند.) یک روش دیگر برای مهار ترجمه، در نوعی از mRNA موجود در تخمک تعداد زیادی از موجودات دیده می‌شود. در ابتدا، این mRNAها فاقد دم Poly-A با طول کافی برای شروع ترجمه هستند. در زمان مناسب در طول تکوین جنین، یک آنزیم سیتوپلاسمی، تعداد کافی از نوکلئوتید آدنین (A) را به دم mRNA اضافه می‌کند و ترجمه شروع می‌شود.

گاهی، ترجمهٔ «تمام» mRNAهای درون یک سلول به‌صورت همزمان تنظیم می‌شود. در یک سلول یوکاریوتی، چنین تنظیم فراگیری شامل فعال‌سازی یا غیرفعال‌سازی یک یا تعداد بیشتری از عوامل پروتئینی است که برای شروع ترجمه لازم هستند. این مکانیسم نقش مهم در شروع ترجمهٔ mRNAهایی دارد که در تخمک نگه‌داری می‌شوند. درست بعد از لقاح، با فعال شدن ناگهانی عوامل ترجمه، ترجمه آغاز می‌شود. که درنتیجه‌ی آن ساخت انفجاری پروتئین‌ها انجام می‌شود. بعضی از گیاهان و خزه‌ها در طول دوره‌های تاریکی mRNAها را ذخیره می‌کنند و سپس نور باعث فعال‌سازی تشکیلات ترجمه می‌شود.

پردازش و تجزیهٔ پروتئین‌ها

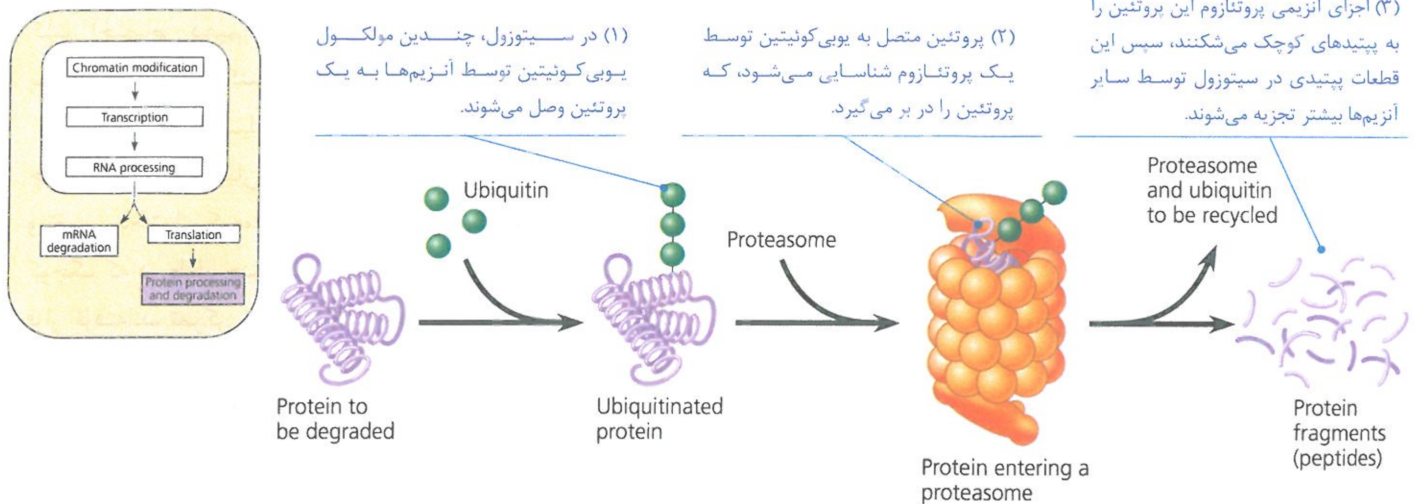
فرصت نهایی برای کنترل بیان ژن بعد از ترجمه اتفاق می‌افتد. اغلب پلی‌پپتیدهای یوکاریوتی ابتدا باید پردازش شوند تا به مولکول‌های پروتئینی عملکردی تبدیل گردند. برای مثال، هورمون فعال انسولین از برش پلی‌پپتید انسولین اولیه (پرو - انسولین) به‌دست می‌آید. به‌علاوه، بسیاری از پروتئین‌ها باید دچار تغییرات شیمیایی شوند تا فعال گردند. پروتئین‌های تنظیمی معمولاً با اضافه شدن قابل برگشت گروه‌های فسفات فعال یا غیرفعال می‌شوند و پروتئین‌هایی که برای سطح سلول‌های جانوری ساخته شده‌اند ابتدا قند دریافت می‌کنند. پروتئین‌های سطح سلول و بسیاری از پروتئین‌های دیگر برای اینکه کارآیی پیدا کنند، باید ابتدا به مکان هدف خود انتقال پیدا کنند. تنظیم می‌تواند در هریک از مراحل پردازش یا انتقال پروتئین‌ها اتفاق بیافتد.

در آخر، مدت زمانی که هر پروتئین در سلول عمل می‌کند به شدت از طریق تجزیهٔ انتخابی آن، تنظیم می‌شود. بسیاری از پروتئین‌ها مانند سایکلین‌ها که در تنظیم چرخهٔ سلولی نقش دارند، باید طول عمر نسبتاً کوتاهی داشته باشند تا سلول بتواند به درستی کار کند (شکل ۱۷- ۱۲ را ببینید). سلول معمولاً برای نشان‌دار کردن یک پروتئین برای تجزیه، مولکول‌هایی از یک پروتئین کوچک به‌نام یوبی‌کوئیتین[2] را به آن اضافه می‌کند. سپس کمپلکس‌های غول‌پیکر پروتئینی که **پروتئازوم**[3] نام دارند این پروتئین‌های نشان‌دار شده با یوبی‌کوئیتین را تشخیص می‌دهند و آنها را تجزیه می‌کنند (**شکل ۱۴- ۱۸**). اهمیت پروتئازوم‌ها به حدی است که یافته‌های جدید نشان داده‌اند که جهش‌هایی که پروتئین‌های چرخهٔ سلولیِ مقاوم به پروتئازوم‌ها را ایجاد می‌کنند، باعث ایجاد سرطان می‌شوند.

1- Untranslated region

2- Ubiquitin

3- Proteasome



شکل ۱۴-۱۸ تجزیهٔ یک پروتئین به‌وسیلهٔ یک پروتئازوم. *پروتئازوم، یک کمپلکس پروتئینی بسیار بزرگ شبیه به سطل آشغال است که پروتئین‌های بی‌مصرف را در سلول قطعه‌قطعه می‌کند. در بیشتر موارد، پروتئازوم به پروتئینی حمله می‌کند که به‌وسیلهٔ زنجیره‌های کوتاه یوبی‌کوئیتین نشان‌دار شده است. مرحله‌های ۱ و ۳ به انرژی نیاز دارند. پروتئازوم‌های یوکاریوتی به بزرگی زیرواحدهای ریبوزومی هستند و درون سلول پخش می‌شوند. شکل این پروتئین‌ها تاحدی شبیه پروتئین‌های چاپرون است. پروتئین‌های چاپرون به‌جای تخریب پروتئین از ساختار آن محافظت می‌کنند (شکل ۲۳-۵ را ببینید).*

پرسش‌های مبحث ۲-۱۸

۱. تأثیر استیلاسیون هیستون و متیلاسیون DNA روی بیان ژن چگونه است؟

۲. نقش عوامل رونویسی عمومی و اختصاصی را در تنظیم بیان ژن با هم مقایسه کنید.

۳. فرض کنید که توالی نوکلئوتیدی بخش‌های تنظیمی دوردست مربوط به افزاینده‌های سه ژن را که فقط در ماهیچه بیان می‌شوند با هم مقایسه می‌کنید. انتظار دارید چه چیزی بیابید؟ چرا؟

۴. از زمانی که یک mRNA رمزکنندهٔ پروتئین به سیتوپلاسم می‌رسد، چهار مکانیسمی که می‌توانند مقدار پروتئین فعال موجود در سلول را کنترل کنند، کدامند؟

۵. چه می‌شد اگر؟ شکل ۱۱-۱۸ را بررسی کرده و مکانیسمی را پیشنهاد کنید که با آن پروتئین فعال‌کنندهٔ زردرنگ در سلول‌های کبد ظاهر شود ولی در سلول‌های عدسی (چشم) وجود نداشته باشد.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۱۸ RNAهای غیررمزکننده، نقش‌های متعددی در تنظیم بیان ژن دارند

فقط ۱/۵ درصد از ژنوم انسانی و به‌طور مشابهی درصد کمی از ژنوم بسیاری از موجودات پرسلولی دیگر، پروتئین‌ها را رمز می‌کند. از مقدار باقیماندهٔ ژنوم، فقط درصد کمی حاوی ژن‌های RNAهای کوچک، مانند RNA ریبوزومی و RNA ناقل است. تا این اواخر، به‌نظر می‌رسید که بیشتر باقی‌ماندهٔ DNA، رونویسی نمی‌شود و عقیده بر این بود که، از آنجایی که این DNA پروتئین‌ها یا چند نوع RNA شناخته‌شده را رمز نمی‌کند، اطلاعات ژنتیکی معناداری ندارد. ولی امروزه سیلی از اطلاعات جدید، این دیدگاه را رد کرده‌اند. برای مثال، مطالعهٔ دقیق ناحیه‌ای که ۱٪ از ژنوم انسانی را تشکیل می‌دهد، نشان داد که بیش از ۹۰٪ آن ناحیه رونویسی شده بود. کسر کمی از این مقدار، مربوط به اینترون‌هایی است که رونویسی می‌شوند ولی ترجمه نمی‌شوند. این مطالعه و سایر مطالعات مطرح کرده‌اند که این مقدار زیاد از ژنوم احتمالاً به RNAهای غیررمزکنندهٔ پروتئین رونویسی می‌شود که RNAهای غیررمزکننده[1] نامیده می‌شوند و شامل انواع زیادی از RNAهای کوچک هستند. با این که هنوز سؤالات زیادی در مورد عملکرد این RNAها وجود دارد، محققان هر روز شواهد بیشتری در مورد نقش زیستی آنها پیدا می‌کنند.

زیست‌شناسان از این کشفیات اخیر شگفت‌زده شده‌اند. کشفیاتی که به مقادیر زیاد و متنوعی از مولکول‌های RNA اشاره دارد که وظایف اساسی در تنظیم بیان ژن در سلول ایفا می‌کنند و تا کنون به آنها توجه نشده است. واضح است که ما باید در مورد عقیدهٔ طولانی‌مدت خود که mRNAها مهم‌ترین RNAهای سلولی هستند چون پروتئین‌ها را رمز می‌کنند، تجدید نظر کنیم.

1- Noncoding (nc) RNAs

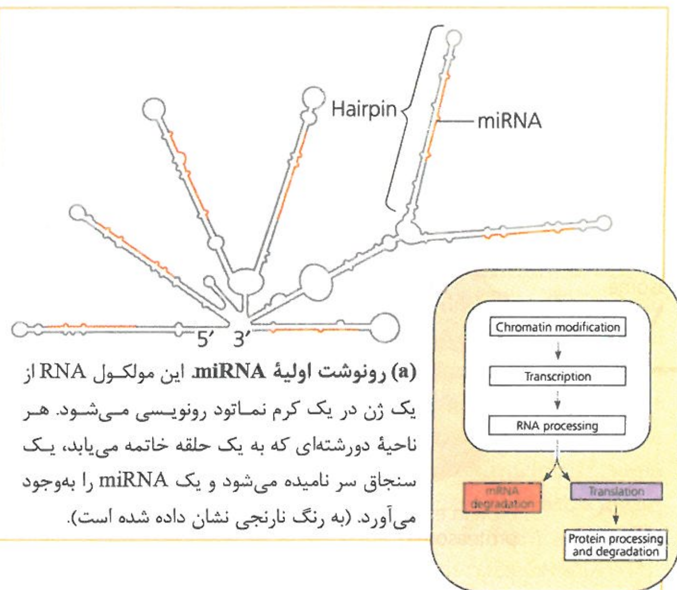
همان‌طورکه اگر تمام توجه خود را به مشهورترین قانون‌گذار یک کشور اختصاص دهیم، بسیاری از مشاوران و اعضای کابینه را که در پشت صحنه کار می‌کنند، نادیده گرفته‌ایم.

تنظیمی که به‌وسیلهٔ RNAهای غیررمزکننده انجام می‌شود در چند نقطه از مسیر بیان ژن اتفاق می‌افتد، از جمله ترجمهٔ mRNA و تغییر ساختمان کروماتین. ما بر روی انواع مختلفی از RNAهای کوچک که در طول چند سال اخیر به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، تمرکز خواهیم کرد. اهمیت این RNAها زمانی شناخته شد که جایزهٔ نوبل سال ۲۰۰۶ در زمینهٔ فیزیولوژی و پزشکی به این مقوله اختصاص یافت.

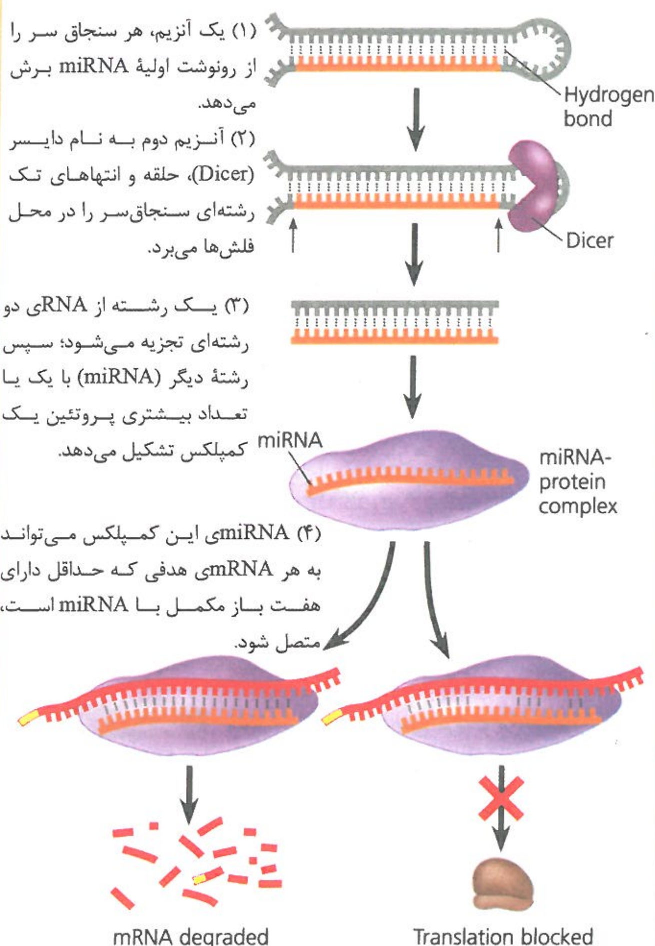
اثرات میکرو RNAها و RNAهای کوچک مداخله‌گر، بر روی mRNAها

از سال ۱۹۹۳، تعدادی از تحقیقات، مولکول‌های RNA کوچک تک‌رشته‌ای را کشف کرده‌اند که «**میکرو RNA**[1]» (**miRNA**) نام دارند و قادرند به توالی‌های مکمل در مولکول mRNA متصل شوند. miRNAها از RNAهای پیش‌ساز بلندتری ایجاد می‌شوند که روی خودشان تا می‌خورند و یک یا چند ساختار دورشته‌ای کوتاه شبیه به سنجاق‌سر تشکیل می‌دهند. هریک از این ساختارها با پیوندهای هیدروژنی کنار هم قرار می‌گیرند (**شکل ۱۵- ۱۸**). سپس هریک از سنجاق‌سرها از پیش‌ساز جدا می‌شوند. بعد از این مرحله، یک آنزیم به‌نام دایسر[2]، هریک از سنجاق‌سرها را به یک قطعهٔ کوتاه دورشته‌ای با حدود ۲۲ جفت نوکلئوتید تبدیل می‌کند. یکی از دو رشته تجزیه می‌شود، درحالی‌که دیگری که همان miRNA می‌باشد، با یک یا چند پروتئین، یک کمپلکس تشکیل می‌دهد. این miRNA به کمپلکس اجازه می‌دهد تا به هر مولکول mRNA ای که توالی مکمل داشته باشد، متصل شود. سپس این کمپلکس پروتئین ــ miRNA ، یا مولکول mRNA را تجزیه می‌کند یا اینکه ترجمه شدن آن را مهار می‌کند. تخمین زده می‌شود که بیان نیمی از تمام ژن‌های انسانی به‌وسیلهٔ miRNAها تنظیم می‌شود.

درک مسیر miRNA یک توضیح قابل قبول برای این پدیدهٔ گیج‌کننده ارائه می‌دهد. محققان دریافته بودند که اگر مولکول‌های RNA دورشته‌ای را درون یک سلول تزریق کنند، بیان ژنی که توالی یکسان با آن RNA داشته باشد، متوقف می‌شود. آنها این



(a) رونوشت اولیهٔ miRNA. این مولکول RNA از یک ژن در یک کرم نماتود رونویسی می‌شود. هر ناحیهٔ دورشته‌ای که به یک حلقه خاتمه می‌یابد، یک سنجاق سر نامیده می‌شود و یک miRNA را به‌وجود می‌آورد. (به رنگ نارنجی نشان داده شده است).



(۱) یک آنزیم، هر سنجاق سر را از رونوشت اولیهٔ miRNA برش می‌دهد.

(۲) آنزیم دوم به نام دایسر (Dicer)، حلقه و انتهاهای تک رشته‌ای سنجاق‌سر را در محل فلش‌ها می‌برد.

(۳) یک رشته از RNAی دو رشته‌ای تجزیه می‌شود؛ سپس رشتهٔ دیگر (miRNA) با یک یا تعداد بیشتری پروتئین یک کمپلکس تشکیل می‌دهد.

(۴) miRNAی این کمپلکس می‌تواند به هر mRNAی هدفی که حداقل دارای هفت باز مکمل با miRNA است، متصل شود.

(۵) اگر بازهای miRNA و mRNA در تمامی طولشان با هم مکمل باشند، mRNA تجزیه می‌شود (چپ)؛ اگر جفت شدگی کامل نباشد، ترجمه مهار می‌شود (راست).

(b) تولید و عملکرد miRNAها

◀ شکل ۱۵- ۱۸ **تنظیم بیان ژن توسط miRNAها.**

1- MicroRNA
2- Dicer

پدیدهٔ تجربی را **تداخل RNA**[1] (**RNAi**) نامیدند و ثابت شد که این پدیده به‌علت وجود **RNAهای مداخله‌گر کوچک**[2] (**siRNAs**) که از نظر اندازه و عملکرد شبیه miRNAها هستند، ایجاد می‌شود. تحقیقات بعدی نشان داد که ماشین سلولی مشابهی هر دوی miRNAها و siRNAها را می‌سازد و اینکه هر دو می‌توانند با پروتئین‌های یکسانی ترکیب شوند و نتایج مشابهی ایجاد کنند. افتراق بین miRNAها و siRNAها برپایهٔ طبیعت مولکول پیش‌ساز هریک می‌باشد. miRNA معمولاً از یک سنجاق‌سر منفرد در یک RNAی پیش‌ساز ایجاد می‌شود (شکل ۱۵- ۱۸ را ببینید)، درحالی‌که siRNAها از مولکول‌های RNA دورشته‌ای بسیار بلندتری ایجاد می‌شوند که هریک، siRNAهای متعددی ایجاد می‌کنند.

ما توضیح دادیم که محققان، RNAهای دورشته‌ای را داخل سلول‌ها تزریق کرده بودند. احتمالاً با خود فکر کرده‌اید که آیا چنین RNAهای دورشته‌ای به‌صورت طبیعی وجود دارند؟ همان‌طورکه در فصل ۱۹ خواهید آموخت، بعضی از ویروس‌ها، RNA دورشته‌ای دارند. از آن‌جایی که مسیرهای تداخل RNAی سلولی، منجر به تخریب RNAهایی که دارای توالی‌های مکمل با RNA دورشته‌ای هستند می‌شوند، این مسیرها احتمالاً یک دفاع طبیعی در مقابل عفونت با این ویروس‌ها هستند. این حقیقت که مسیرهای تداخل RNA همچنین می‌توانند بیان ژن‌های غیرویروسی خود سلول را هم مهار کنند، یک منشأ تکاملی متفاوت را برای این مسیرها مطرح می‌کند. ولی به‌نظر می‌رسد که بعضی از گونه‌ها خودشان پیش‌سازهای RNA دورشته‌ای بلند را می‌سازند و آنها را به RNAهای کوچک، مانند siRNAها تبدیل می‌کنند. این RNAها سپس می‌توانند با بیان ژن در مراحل دیگری هم، غیر از ترجمه، که در مورد آنها بحث خواهیم کرد، تداخل کنند.

بازآرایی کروماتین و خاموش‌سازی رونویسی توسط RNAهای کوچک

RNAهای کوچک علاوه بر تأثیری که روی mRNAها دارند، می‌توانند باعث بازآرایی ساختار کروماتین شوند. در مخمرها، به‌نظر می‌رسد siRNAهایی که توسط خود سلول‌ها تولید می‌شوند، برای تشکیل هتروکروماتین موجود در سانترومر کروموزوم‌ها، ضروری باشند. نتایج تجربی، یک مدل برای توضیح نقش siRNAها در تشکیل هتروکروماتین پیشنهاد کرده‌اند. براساس این مدل، RNAای که از روی DNA در محل سانترومر کروموزوم رونویسی شده است، توسط یک آنزیم مخمر به RNA دورشته‌ای تبدیل و سپس به siRNA پردازش می‌شود. این siRNAها با یک کمپلکس پروتئینی متفاوت از پروتئین‌هایی که در شکل ۱۵- ۱۸ نشان داده شده است ترکیب می‌شوند و به‌عنوان یک رادار، توالی DNAی سانترومری که از آن تشکیل شده‌اند را هدف قرار می‌دهند. این کمپلکس وقتی به محل سانترومر برسد، پروتئین‌های آن، آنزیم‌هایی را که باعث تغییر کروماتین می‌شوند به‌کار می‌گیرد. این آنزیم‌ها کروماتین را به هتروکروماتین شدیداً متراکم سانترومری تبدیل می‌کنند.

گروهی از ncRNAهای کوچک که به تازگی کشف شده‌اند و RNAهای مرتبط با piwi (piRNAها) نامیده می‌شوند نیز تشکیل هترو کروماتین، را القا کرده و بیان برخی عناصر DNAی انگلی در ژنوم به‌نام ترانسپوزون را مهار می‌کنند. (ترانسپوزون‌ها در فصل ۲۱ شرح داده می‌شوند.) توالی‌های ۲۴ تا ۳۱ نوکلئوتیدی piRNAها احتمالاً از پردازش پیش‌سازهای RNAی تک‌رشته‌ای ساخته می‌شوند. آنها نقش ضروری در سلول‌های زایندهٔ بسیاری از گونه‌های جانوران ایفا می‌کنند، ظاهراً piRNAها در طی تشکیل گامت به بازسازی الگوهای متیلاسیون مناسب در ژنوم کمک می‌کنند.

اهمیت تکاملی ncRNAهای کوچک

ncRNAهای کوچک می‌توانند در چند گام و به روش‌های بسیاری بیان ژن را تنظیم کنند. به‌طور کلی، سطوح اضافیِ تنظیم ژن ممکن است. موجب تکامل درجهٔ بیشتری از پیچیدگی شکل می‌شوند. بنابراین قابلیت تنظیم miRNA باعث شده است برخی از زیست‌شناسان فرض کنند که افزایش تعداد miRNAهای مختص ژنوم یک گونهٔ معین، موجب افزایش پیچیدگی مورفولوژیکی آن گونه در طی تکامل شده است. در حالی‌که این فرضیه هم‌چنان مورد تردید قرار دارد، منطقی است که این مبحث تمامی ncRNAهای کوچک را نیز پوشش دهد. روش‌های جدید و جالب توالی‌یابی سریع ژنوم به زیست‌شناسان اجازه می‌دهند تا دریابند که در ژنوم یک گونهٔ مشخص چه تعداد ژن برای ncRNAها وجود دارد. مطالعهٔ گونه‌های مختلف این عقیده را تأیید می‌کند که ابتدا siRNAها تکامل یافتند، بعد miRNAها و سپس piRNAها. piRNAها تنها در جانوران یافت می‌شوند. و در حالی که صدها نوع miRNA وجود دارد، ظاهراً هزاران نوع piRNA یافت می‌شود که موجب تنظیم بسیار پیچیدهٔ ژن توسط piRNAها می‌شود.

1- RNA interference
2- Small interfering RNAs

با وجود اعمال بسیار ncRNAها، تعجب‌آور نیست که بسیاری از ncRNAهای شناخته شده نقش‌های مهمی در تکوین جنینی ایفا می‌کنند – عنوانی که در قسمت بعد به آن اشاره خواهیم کرد. شاید تکوین جنین بزرگ‌ترین مثال تنظیم دقیق بیان ژن است.

پرسش‌های مبحث ۳–۱۸

۱. miRNAها و siRNAها را با هم مقایسه کنید.

۲. **چه می‌شد اگر؟** فرض کنید mRNAای که در شکل ۱۵- ۱۸ تجزیه می‌شود پروتئینی را رمز می‌کند که مسئول تقسیم سلولی در یک موجود پرسلولی می‌باشد. اگر جهشی ژن رمزکنندهٔ miRNAی مسئول تخریب این پروتئین را غیرفعال کند، چه اتفاقی می‌افتد؟

۳. **ارتباط دهید** در مبحث ۲-۱۵ شما در مورد غیر فعال‌سازی یکی از کروموزوم‌های X در پستانداران ماده آموختید. آن صفحات را دوباره مطالعه کنید و طرحی را برای چگونگی عملکرد RNAی غیر عملکردی XIST، که موجب تشکیل جسم بار می‌شود، پیشنهاد کنید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۴–۱۸ برنامه‌ای که موجب بیان متفاوت ژن‌ها می‌شود باعث به‌وجود آمدن انواع مختلف سلول‌ها در یک موجود پرسلولی می‌گردد

در طول تکوین جنینی یک موجود پرسلولی، یک تخم بارور شده (زیگوت) انواع مختلفی سلول ایجاد می‌کند که هر کدام ساختار و عملکرد خاص خود را دارند. سلول‌ها بافت‌ها را ایجاد می‌کنند، بافت‌ها، اندام‌ها را، اندام‌ها، دستگاه‌ها را و در آخر دستگاه‌ها کل موجود زنده را می‌سازند. بنابراین، یک برنامهٔ تکوینی باید انواع مختلفی از سلول‌ها را ایجاد کند که بتوانند ساختارهای سطح بالاتری تشکیل دهند و در یک شکل خاص، در سه بُعد قرار بگیرند. فرایندهایی که در طول تکوین گیاهان و جانوران اتفاق می‌افتند در فصل‌های ۳۵ و ۴۷ با جزئیات بیان شده‌اند. ولی در این فصل، ما روی برنامهٔ تنظیم بیان ژن که تکوین را هدایت می‌کند تمرکز می‌کنیم و از چند نوع جانور به‌عنوان مثال استفاده خواهیم کرد.

یک برنامهٔ ژنتیکی برای تکوین جنین

شکل ۱۶- ۱۸ تفاوت عمدهٔ بین یک زیگوت و موجودی که از آن به‌وجود می‌آید را نشان می‌دهد. این دگرگونی قابل توجه، از سه فرایند وابسته ناشی می‌شود: تقسیم سلولی[1]، تمایز سلولی[2] و ریخت‌زایی[3]. در پی تقسیم‌های میتوزی متوالی، زیگوت تعداد زیادی سلول ایجاد می‌کند. تقسیم سلول به تنهایی، تنها توپی بزرگ از سلول‌های یکسان ایجاد می‌کند که هیچ شباهتی به بچه قورباغه ندارد. در طول تکوین جنینی، سلول‌ها نه تنها از نظر تعداد افزایش می‌یابند، بلکه دچار **تمایز سلولی** هم می‌شوند، فرایندی که سلول‌ها را از نظر شکل و عملکرد، اختصاصی می‌کند. به‌علاوه، انواع مختلف سلولی به‌صورت تصادفی توزیع نمی‌شوند بلکه به شکل بافت‌ها و اندام‌ها در یک چینش سه‌بعدی اختصاصی قرار می‌گیرند. فرایند فیزیکی که به یک موجود، شکل خاصی می‌بخشد **ریخت‌زایی (مورفوژنز)** نام دارد.

هر سه فرایند، برپایهٔ رفتار سلولی استوار هستند. حتی ریخت‌زایی (شکل‌دادن به موجود زنده) به تغییرات در شکل، تحرک و صفات دیگر سلولی که مناطق مختلف جنین را می‌سازند بستگی دارد. همان‌طورکه دیده‌اید، فعالیت‌های یک سلول وابسته به ژن‌های بیان شده و پروتئین‌های تولید شده است. تقریباً تمام سلول‌های یک موجود زنده ژنوم یکسان دارند؛ بنابراین بیان ژن اختصاصی، ناشی از تنظیم ژن متفاوت در هر نوع سلول است.

در شکل ۱۱- ۱۸ شما یک نمای ساده از چگونگی بیان ژن متفاوت در دو نوع سلول، دیدید یک سلول کبدی و یک سلول عدسی. هر کدام از این سلول‌های کاملاً تمایزیافته، ترکیب خاصی از فعال‌کننده‌های اختصاصی دارند که مجموعه‌ای از ژن‌ها که فراورده‌هایشان برای سلول لازم است را روشن می‌کنند. این حقیقت که هر دو سلول از میتوزهای متوالی یک سلول تخم به‌وجود آمده‌اند، ناچار یک سؤال ایجاد می‌کند: چگونه ممکن است مجموعهٔ متفاوتی از فعال‌کننده‌ها در این دو نوع سلول به‌وجود بیاید؟



(a) Fertilized eggs of a frog



(b) Newly hatched tadpole

شکل ۱۶- ۱۸ از تخم بارور شده تا حیوان: چهار روز چه تفاوتی ایجاد می‌کند. *فقط چهار روز زمان لازم است تا هریک از تخم‌های قورباغهٔ موجود در شکل (a) دچار تقسیم سلولی، تمایز و ریخت‌زایی شوند و تبدیل به نوزاد قورباغهٔ موجود در شکل (b) بشوند.*

1- Cell division
2- Cell differentiation
3- Morphogenesis

موادی که توسط مادر در سلول تخم قرار گرفته‌اند، یک برنامهٔ ترتیبی برای تنظیم ژن ایجاد می‌کنند که با تقسیم شدن سلول اجرا می‌شود. این برنامه باعث می‌شود تا سلول‌ها به‌شکلی هماهنگ، با یکدیگر تفاوت پیدا کنند. برای درک این برنامه، ما دو فرایند تکوینی پایه را درنظر می‌گیریم: اول، بررسی می‌کنیم که چگونه سلول‌های حاصل از اولین میتوزهای جنین، تفاوت‌هایی را ایجاد می‌کنند که باعث می‌شود هر سلول مسیر تمایزی خاص خود را پیش بگیرد. و دوم، خواهیم دید که چگونه تمایز سلولی باعث ایجاد یک نوع سلول خاص می‌شود و از تکوین سلول ماهیچه‌ای به‌عنوان مثال استفاده خواهیم کرد.

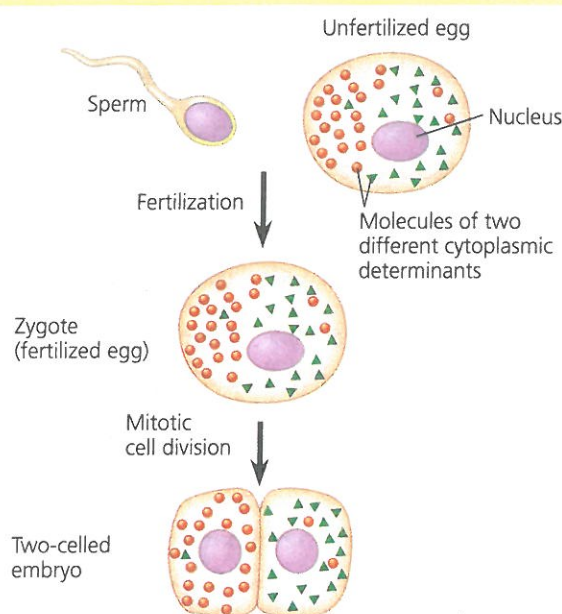
عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی[1] و پیام‌های القاگر

چه چیزی اولین تفاوت‌ها را در سلول‌های جنین ابتدایی ایجاد می‌کند؟ و چه چیزی تمایز تمام انواع سلولی را در طول تکوین کنترل می‌نماید؟ تا اینجای فصل، احتمالاً می‌توانید پاسخ را استنباط کنید: ژن‌های اختصاصی که در هر سلول خاص در یک موجود در حال تکوین بیان می‌شوند، مسیر آن را تعیین می‌کنند. دو منبع اطلاعات، که به مقادیر مختلف در گونه‌های متفاوت وجود دارند، به سلول «می‌گویند» که در هر زمان خاص در طول تکوین جنین، کدام ژن‌ها را بیان کند.

یک منبع اطلاعاتی مهم، در اوایل تکوین، سیتوپلاسم سلول تخم است که حاوی RNA و پروتئین‌هایی است که توسط DNA مادر رمز شده‌اند. سیتوپلاسم یک تخم غیربارور، یکنواخت نیست. RNAهای پیک، پروتئین‌ها، مواد دیگر و اندامک‌ها به‌صورت نامتعادل در سلول پخش شده‌اند. این عدم تعادل، اثری عمیق در تکوین جنین آینده در بسیاری از گونه‌ها دارد. مواد مادری درون تخم که بر مسیر تکوین اولیه اثر می‌گذارند، **عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی** نامیده می‌شوند (**شکل ۱۷a –۱۸**). بعد از لقاح، تقسیمات میتوزی اولیه، سیتوپلاسم زیگوت را بین سلول‌ها جداگانه تقسیم می‌کنند. بنابراین هستهٔ این سلول‌ها در معرض عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمیِ متفاوتی، بسته به اینکه سلول کدام قسمت از سیتوپلاسم زیگوت را دریافت کرده باشد، قرار می‌گیرد. ترکیب عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی به تعیین سرنوشت تکوینی سلول کمک می‌کند زیرا باعث تنظیم بیان ژن‌های سلول در طول مسیر تمایز سلولی می‌شود.

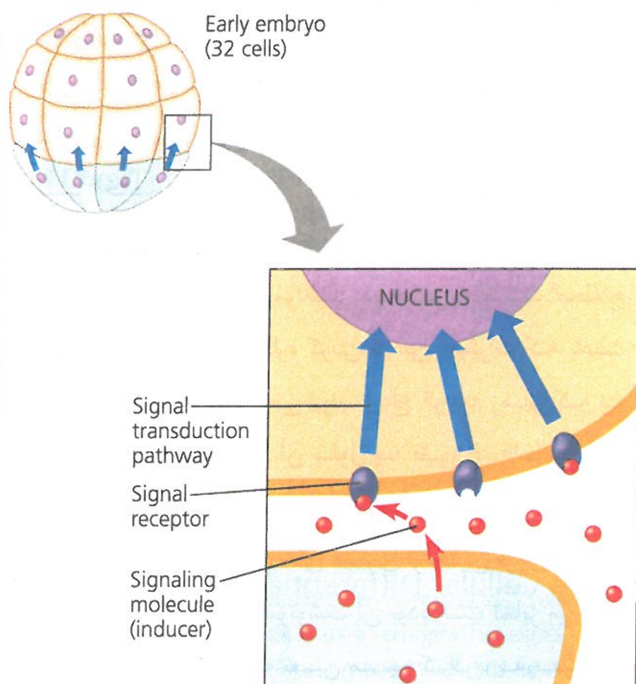
شکل ۱۷– ۱۸ منابع اطلاعات تکوینی برای جنین ابتدایی.

(a) عوامل تعیین کنندهٔ سیتوپلاسمی در تخمک



در سیتوپلاسم تخمک غیر بارور، مولکول‌هایی وجود دارد که توسط ژن‌های مادری کد شده‌اند و بر روی تکوین آن تأثیر می‌گذارند. بسیاری از این عوامل تعیین کنندهٔ سیتوپلاسمی (مانند دو مولکولی که در اینجا نشان داده شده‌اند) به‌طور غیر یکنواخت در تخمک انتشار یافته‌اند. پس از لقاح و تقسیم میتوزی، هسته‌های سلول‌های جنینی در معرض ترکیب متفاوتی از عوامل تعیین کنندهٔ سیتوپلاسمی قرار می‌گیرند و در نتیجه ژن‌های مختلفی را بیان می‌کنند.

(b) القا توسط سلول‌های مجاور



سلول‌های انتهای جنین اولیه که در اینجا نشان داده شده‌اند، در حال آزادسازی مواد شیمیایی هستند که به سلول‌های مجاور پیام می‌دهند تا بیان ژن‌شان را تغییر دهند.

1- Cytoplasmic Determinants

یک منبع اساسی دیگر برای اطلاعات تکوینی، محیطی است که اطراف یک سلول خاص را می‌گیرد. اهمیت این مسأله با زیاد شدن سلول‌های جنین، بیشتر و بیشتر می‌شود. تأثیرگذارترین عوامل، پیام‌هایی هستند که از سلول‌های دیگر در آن محدوده ارسال می‌شوند و با سلول تماس برقرار می‌کنند. این پیام‌ها شامل تماس با مولکول‌های سطحی سلول‌های همسایه و اتصال با فاکتورهای رشدی است که از سلول‌های مجاور ترشح شده‌اند. این پیام‌ها باعث تغییراتی در سلول‌های هدف می‌شوند. این فرایند «**القا**[1]» نامیده می‌شود (**شکل ۱۷b – ۱۸**). مولکول‌هایی که این پیام‌ها را به درون سلول هدف می‌رسانند، گیرنده‌های سطحی سلول و سایر پروتئین‌هایی هستند که توسط ژن‌های خود جنین بیان شده‌اند. به‌طورکلی، مولکول‌های پیام‌رسان از طریق تغییر بیان ژن‌های یک سلول، آن را به یک مسیر تکوینی خاص هدایت می‌کنند که سرانجام به تغییرات سلولی قابل مشاهده‌ای می‌انجامد. بنابراین برهمکنش میان سلول‌های جنین باعث القای تمایز انواع مختلف سلولی می‌شود که سرانجام یک موجود زنده را می‌سازند.

تنظیم ترتیبی بیان ژن در طول تمایز سلولی

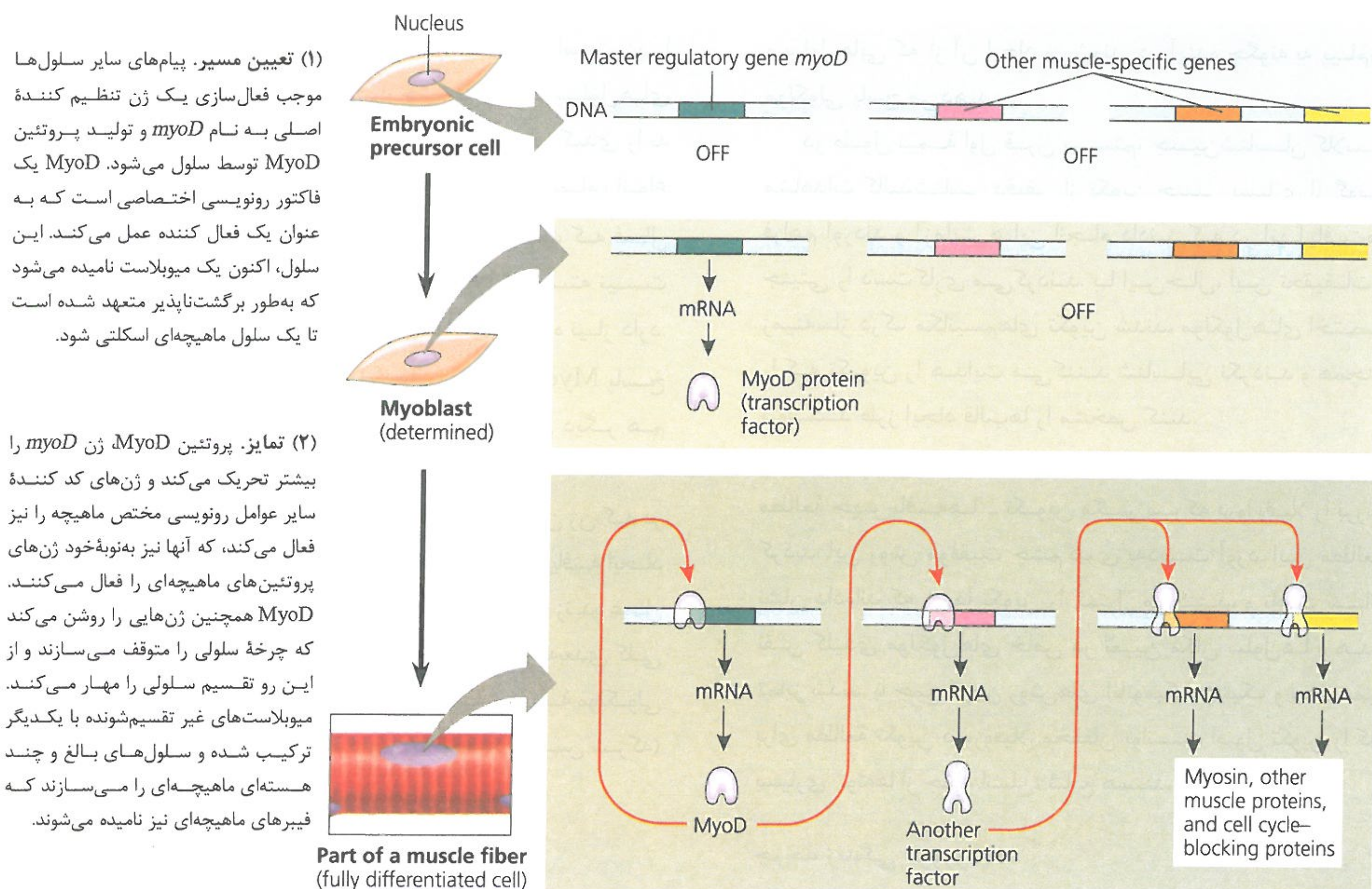
همان‌طورکه بافت‌ها و اندام‌های یک جنین تکوین می‌یابند و سلول‌ها تمایز پیدا می‌کنند، این سلول‌ها به‌طور قابل توجهی از نظر ساختار و عملکرد متفاوت می‌شوند. این تغییرات قابل مشاهده در حقیقت نتیجهٔ تاریخچهٔ تکوینی سلولی هستند که از اولین تقسیم میتوزی زیگوت شروع می‌شود. ابتدایی‌ترین تغییراتی که سلول را در مسیر اختصاصی شدن قرار می‌دهند، بسیار دقیق هستند و تنها در سطح مولکولی ظاهر می‌شوند. زمانی‌که زیست‌شناسان اطلاعات زیادی در مورد تغییرات مولکولی در جنین نداشتند، اصطلاح **تعیین مسیر کردن**[2] را برای اشاره کردن به این تغییرات که باعث تمایز قابل مشاهدهٔ یک سلول می‌شوند، ابداع کردند. زمانی‌که نوع یک سلول تعیین مسیر شود، آن سلول به طور غیرقابل بازگشتی به سوی سرنوشت نهایی خود حرکت می‌کند. اگر چنین سلولی به‌صورت آزمایشگاهی در جای دیگری از جنین قرار بگیرد، همچنان به همان نوع سلولی که سرنوشت آن بوده است تمایز می‌یابد.

امروزه ما می‌دانیم که تعیین مسیر کردن، به‌وسیلهٔ تغییرات مولکولی اتفاق می‌افتد. نتیجهٔ تعیین مسیر کردن، یعنی همان تمایز سلولی قابل مشاهده، به‌وسیلهٔ بیان ژن‌های «پروتئین‌های اختصاصی بافتی[3]» مشخص می‌شود. این پروتئین‌ها فقط در یک نوع سلول خاص ظاهر می‌شوند و به سلول ساختار و عملکرد منحصربه‌فرد می‌بخشند. اولین نشانهٔ تمایز، ظهور mRNAهای مخصوص این پروتئین‌ها در سلول است. سرانجام، تمایز به‌صورت تغییراتی در ساختار سلولی، به‌وسیلهٔ میکروسکوپ قابل مشاهده است. در سطح مولکولی، همان‌طورکه سلول‌های جدید از تقسیم پیش‌سازهایشان ایجاد می‌شوند، مجموعهٔ مختلفی از ژن‌ها به‌ترتیب و به‌صورت تنظیم‌شده، بیان می‌شوند. در طول تمایز، تعدادی از مراحل بیان ژن تنظیم می‌شود که مرحلهٔ رونویسی از جملهٔ مهم‌ترین این مراحل است. در یک سلول کاملاً تمایزیافته، رونویسی همچنان نقطهٔ تنظیمی اصلی برای بیان ژن می‌باشد.

سلول‌های تمایزیافته برای تولید پروتئین‌های اختصاصی بافتی، تخصصی شده‌اند. برای مثال، درنتیجهٔ تنظیم رونویسی، سلول‌های کبد برای ساخت آلبومین و سلول‌های عدسی برای ساخت کریستالین اختصاصی می‌شوند (شکل ۱۱- ۱۸ را ببینید). سلول‌های ماهیچهٔ اسکلتی در مهره‌داران، یک مثال دیگر هستند. هریک از این سلول‌ها، یک رشتهٔ بلند است که حاوی تعداد زیادی هسته درون یک غشای پلاسمایی منفرد می‌باشد. سلول‌های ماهیچهٔ اسکلتی مقادیر بالایی از پروتئین‌های اختصاصیِ عضله یعنی میوزین و اکتین دارند. همچنین دارای پروتئین‌های گیرندهٔ غشایی هستند که پیام‌های سلول‌های عصبی را دریافت می‌کنند.

سلول‌های ماهیچه‌ای از سلول‌های پیش‌ساز جنینی ایجاد می‌شوند که پتانسیل این را دارند که به تعدادی از انواع سلولی، مانند سلول‌های غضروفی و چربی تکوین پیدا کنند ولی شرایط خاصی آنها را ملزم می‌کند تا به سلول‌های ماهیچه‌ای تمایز پیدا کنند. با وجود اینکه این سلول‌ها در زیر میکروسکوپ بدون تغییر به‌نظر می‌رسند، تعیین مسیر اتفاق افتاده است و آنها هم‌اکنون «میوبلاست[4]» هستند. سرانجام، میوبلاست‌ها شروع به ساخت مقادیر بالای پروتئین‌های اختصاصی ماهیچه می‌کنند و به فرم بالغ، طویل و چندهسته‌ای سلول‌های ماهیچهٔ اسکلتی تبدیل می‌شوند (**شکل ۱۸– ۱۸**).

1- Induction
2- Determination
3- Tissue-specific proteins
4- Myoblasts



شکل ۱۸ - ۱۸ تعیین مسیر و تمایز سلول‌های ماهیچه‌ای. *سلول‌های ماهیچهٔ اسکلتی درنتیجهٔ تغییر در بیان ژن، از سلول‌های جنینی تشکیل می‌شوند (در این شکل، فرایند فعال‌سازی ژن بسیار ساده شده است.)*

چه می‌شد اگر ؟ *اگر جهش در ژن myoD رخ دهد و درنتیجه، پروتئین myoDای ایجاد شود که نتواند ژن myoD را فعال کند، چه اتفاقی می‌افتد؟*

محققان میوبلاست‌ها را کشت داده‌اند و آنها را با تکنیک‌های بیولوژی مولکولی، که در فصل ۲۰ در مورد آنها خواهید آموخت، آنالیز کرده‌اند و دریافته‌اند که چه چیزی در سطح مولکولی در طول تعیین مسیر سلول ماهیچه‌ای اتفاق می‌افتد. در یک سری از آزمایش‌ها، آنها ژن‌های مختلفی را جدا کردند و شرایطی را فراهم آوردند که هریک در سلول‌های جنینیِ پیش‌سازِ جداگانه‌ای بیان شوند. سپس تمایز به میوبلاست‌ها و سلول‌های ماهیچه‌ای را در این سلول‌ها بررسی کردند. به این وسیله، آنها ژن‌هایی را یافتند که ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ اصلی[1] نامیده می‌شوند و محصولات پروتئینی آنها سلول را برای تبدیل شدن به سلول ماهیچه‌ای ملزم می‌کنند. در مورد سلول‌های ماهیچه‌ای، پایهٔ مولکولیِ تعیین مسیر، بیان یک یا چند عدد از این ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ اصلی می‌باشد.

برای درک بیشتر این التزام در تمایز سلول ماهیچه‌ای، بیایید روی یک ژن تنظیم‌کنندهٔ اصلی به‌نام *myoD* تمرکز کنیم (شکل ۱۸- ۱۸ را ببینید). این ژن، پروتئین MyoD را رمز می‌کند. این پروتئین یک عامل رونویسی می‌باشد که به قطعات کنترلی خاصی موجود در افزایندهٔ چندین ژن هدف متصل می‌شود و بیان آنها را تحریک می‌کند. برخی از ژن‌های هدف MyoD، عوامل رونویسیِ اختصاصیِ ماهیچهٔ دیگری را رمز می‌کنند. MyoD همچنین بیان ژن خودش را هم تحریک می‌کند و بنابراین اثرش برای حفظ سلول در حالت تمایزیافته، دائمی می‌شود. احتمالاً تمام ژن‌هایی که به‌وسیلهٔ MyoD فعال می‌شوند، قطعات کنترلی افزاینده‌ای دارند که MyoD آنها را تشخیص می‌دهد و بنابراین به‌صورت هماهنگ کنترل می‌شوند. سرانجام، عوامل رونویسی ثانویه، ژن‌هایی را فعال می‌کنند که مسئول رمز کردن پروتئین‌هایی مانند اکتین و میوزین هستند. این پروتئین‌ها خواص منحصربه‌فرد سلول ماهیچهٔ اسکلتی را به آن می‌بخشند.

1- Master regulatory genes

اطلاق ژن تنظیم‌کنندهٔ اصلی برای *myoD* مناسب است. زیرا تحقیقات نشان داده‌اند که این پروتئین حتی قادر است سلول‌های غیرماهیچه‌ای کاملاً تمایزیافته، مانند سلول‌های چربی و کبدی را به سلول‌های ماهیچه‌ای تبدیل کند. چرا این ژن در «تمام» انواع سلول‌ها کار نمی‌کند؟ یک توضیح قابل قبول این است که فعال شدن ژن‌های اختصاصی ماهیچه‌ای، تنها به MyoD وابسته نیست بلکه به «ترکیب» خاصی از پروتئین‌های تنظیم‌کننده نیاز دارد. پروتئین‌هایی که بعضی از آنها در سلول‌هایی که به MyoD پاسخ نمی‌دهند، وجود ندارند. تمایز و تعیین مسیر بافت‌های دیگر هم احتمالاً به شکل مشابهی صورت می‌پذیرد.

ما اکنون دیده‌ایم که چگونه برنامه‌های متفاوت برای بیان ژن که در سلول تخم فعال می‌شوند می‌توانند سلول‌ها و بافت‌های تمایزیافته ایجاد کنند. ولی برای اینکه بافت‌ها به‌صورت کارآمد در یک موجود زنده عمل کنند، لازم است که طرح بدنی[1] موجود زنده، یعنی ساختار سه‌بعدی کلی آن، تعیین شود و به فرایند تمایز اضافه گردد. در ادامه، ما پایهٔ مولکولی ایجاد طرح بدنی را بررسی خواهیم کرد و از دروزوفیلا[2] (مگس سرکه) به‌عنوان مثال استفاده می‌کنیم.

قالب‌بندی: ساختن طرح بدنی

عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی و پیام‌های القاگر، هر دو برای تکوین یک آرایش فضایی که در آن بافت‌ها و اندام‌های یک موجود زنده در محل اصلی خود قرار می‌گیرند، همکاری می‌کنند. این فرایند **قالب‌بندی**[3] نام دارد.

قالب‌بندی در جانوران در جنین ابتدایی شروع می‌شود، هنگامی‌که محورهای اصلی جانور ایجاد می‌شوند. قبل از اینکه ساختن یک ساختمان جدید شروع شود، محل جلو، پشت و کناره‌های آن تعیین می‌شوند. به همین شکل، قبل از اینکه بافت‌ها و اندام‌های یک جانورِ دارای تقارن دو طرفی ظاهر شوند، مکان نسبی سر و دُم حیوان، چپ و راست، و جلو و عقب آن مشخص می‌شود. بنابراین سه محور اصلی بدن ایجاد می‌شوند. راهنماهای مولکولی که قالب‌بندی را کنترل می‌کنند، مجموعاً **اطلاعات موقعیتی**[4] نامیده می‌شوند و به‌وسیلهٔ عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی و پیام‌های القاگر فراهم می‌شوند (شکل ۱۷- ۱۸ را ببینید). این راهنماها، مکان یک سلول را نسبت به محورهای بدن و سلول‌های مجاور تعیین می‌کنند و مشخص می‌کنند که یک سلول

و سلول‌هایی که از آن ایجاد می‌شوند، در آینده چگونه به پیام‌های مولکولی پاسخ می‌دهند.

در طول نیمهٔ اول قرن بیستم، جنین‌شناسان کلاسیک مشاهدات کالبدشناسی دقیقی از تکوین جنینی بسیاری از گونه‌ها فراهم آوردند و آزمایش‌هایی انجام دادند که در آنها بافت‌های جنینی را دست‌کاری می‌کردند. با این‌حال، این تحقیقات که زمینه‌ساز درک مکانیسم‌های تکوین شدند، مولکول‌های اختصاصی را که تکوین را هدایت می‌کنند شناسایی نکردند و همچنین نتوانستند طرز ایجاد قالب‌ها را مشخص کنند.

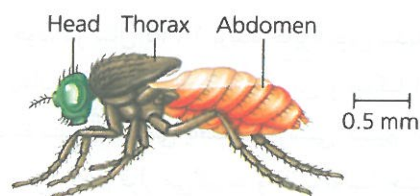
سپس، در دههٔ ۱۹۴۰، دانشمندان با استفاده از روش ژنتیکی مطالعهٔ جهش‌یافته‌ها ـ تکوین مگس‌سرکه دروزوفیلا را بررسی کردند. این روش موفقیت چشم‌گیری به‌دست آورد. این مطالعات نشان داده‌اند که ژن‌ها تکوین را کنترل می‌کنند، و باعث شناخت نقش کلیدی مولکول‌های خاص در تعیین مکان سلول‌ها و هدایت تمایز شدند. با جمع کردن روش‌های آناتومیک، ژنتیک و بیوشیمیایی برای مطالعهٔ تکوین دروزوفیلا، محققان توانستند اصول تکوین را که در بسیاری گونه‌ها از جمله انسان، شایع هستند، کشف کنند.

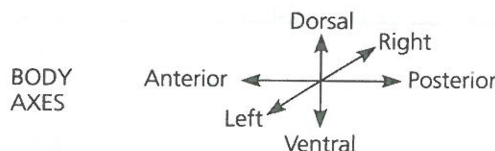
چرخهٔ زندگی دروزوفیلا

مگس سرکه و سایر بندپایان یک ساختار قسمت‌بندی‌شده شامل مجموعهٔ منظمی از قطعات دارند. این قطعات، سه قسمت اصلی بدن را می‌سازند: سر، سینه (قسمت میانی بدن که بال‌ها و پاها از آن خارج می‌شوند) و شکم (**شکل ۱۹a- ۱۸**). مانند سایر جانوران دارای تقارن دوطرفه، دروزوفیلا یک محور جلویی ـ عقبی (سر به دُم)، یک محور پشتی ـ شکمی (پشت به شکم) و یک محور چپ ـ راست دارد. در دروزوفیلا، عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی که در تخم غیربارور قرار دارند، اطلاعات موقعیتی را برای محورهای جلویی ـ عقبی و پشتی ـ شکمی حتی قبل از لقاح فراهم می‌کنند. ما در اینجا روی مولکول‌هایی که در تعیین محور جلویی ـ عقبی نقش دارند، تمرکز می‌کنیم.

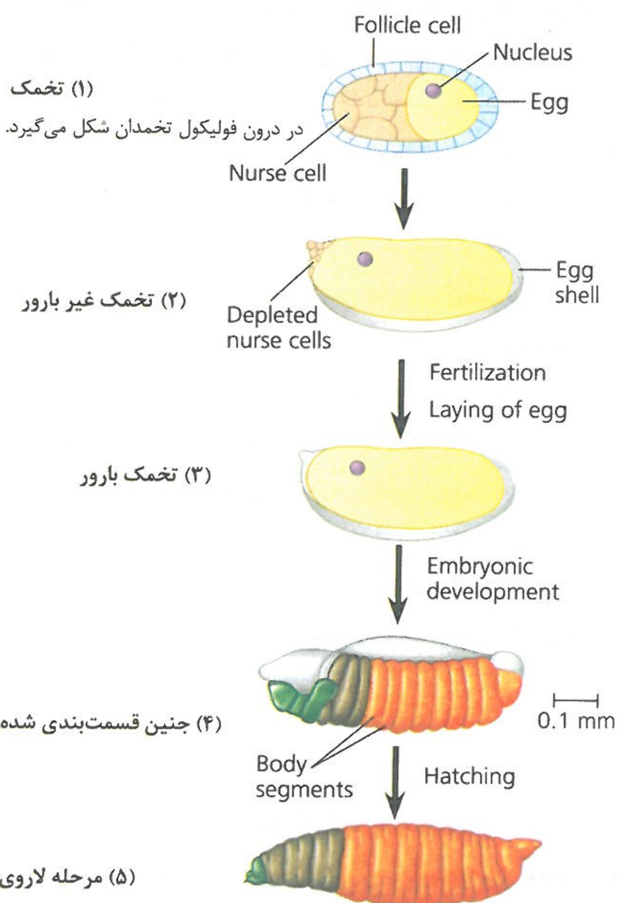
تخمک دروزوفیلا در تخمدان دروزوفیلای ماده تشکیل می‌شود و در آنجا با سلول‌های تخمدانی به‌نام سلول‌های پرستار و سلول‌های فولیکولی احاطه می‌گردد (**شکل ۱۹b- ۱۸**، بالا). این سلول‌های پشتیبان، تخمک را با مواد غذایی، mRNAها و مواد دیگری که برای تکوین نیاز دارد، تغذیه می‌کنند و پوستهٔ تخمک را می‌سازند. بعد از لقاح و گذاشته شدن تخم، تکوین جنینی یک لارو بندبند ایجاد می‌کند که وارد سه مرحلهٔ لاروی می‌شود. سپس در فرایندی شبیه به آن، لارو مگس یک پیله می‌سازد و در آن به مگس بالغ که در شکل ۱۹a- ۱۸ نشان داده شده است، تبدیل می‌شود.

1- Body plan
2- *Drosophila*
3- Pattern formation
4- Positional information





(a) بالغ. مگس بالغ دارای ساختار قسمت‌بندی شده است، و قطعات متعدد، سه قسمت اصلی بدن را می‌سازند – سر، سینه و شکم. محورهای بدن توسط فلش‌ها نشان داده شده‌اند.



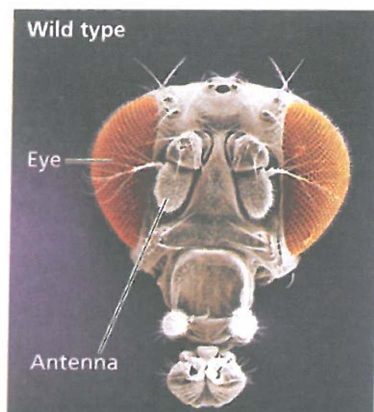
(b) تکوین از تخمک تا لارو. (۱) تخمک زرد رنگ توسط سلول‌های دیگری احاطه شده است که ساختاری به‌نام فولیکول را در درون یکی از تخمدان‌های مادر می‌سازند. (۲) سلول‌های پرستار همچنان‌که چروکیده می‌شوند و مواد غذایی و mRNAهای لازم برای تکوین تخمک را تأمین می‌کنند. تخمک رشد کرده و بزرگ‌تر می‌شود. سرانجام، تخمک بالغ پوستهٔ تخمکی که توسط سلول‌های فولیکولی ترشح شده بود را پر می‌کند. (۳) این تخمک در درون بدن مادر لقاح یافته و سپس گذاشته می‌شود (مادر تخم‌گذاری می‌کند). (۴) تکوین جنینی شکل می‌گیرد. (۵) یک لارو در سه مرحله به‌وجود می‌آید. مرحلهٔ سوم یک پیله (نشان داده نشده است) شکل می‌گیرد، که لارو در درون آن به مگس بالغ تبدیل می‌شود که در (a) نشان داده شده است.

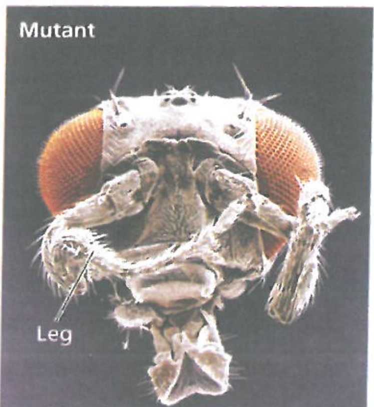
◄ **شکل ۱۹- ۱۸ مراحل تکوینی کلیدی در چرخهٔ زندگی دروزوفیلا.**

آنالیز ژنتیکیِ تکوین اولیه: تحقیق علمی

ادوارد لوئیس[1]، یک زیست‌شناس آمریکایی بود که در دههٔ ۱۹۴۰ برای اولین‌بار ارزش روش ژنتیکی را در مطالعهٔ تکوین جنینی در دروزوفیلا نشان داد. لوئیس مگس‌های جهش‌یافتهٔ عجیبی را مطالعه کرد که نقایص تکوینی داشتند که باعث ایجاد بال‌های اضافه یا پاهای نابه‌جا در آنها می‌شد (**شکل ۲۰- ۱۸**). او جهش‌ها را در نقشهٔ ژنتیکی مگس، مکان‌یابی کرد، بنابراین توانست ناهنجاری‌های تکوینی را به ژن‌های خاصی ارتباط دهد. این تحقیق، اولین مدارک قطعی را برای این نظریه که ژن‌ها فرایندهای تکوینی را کنترل می‌کنند، فراهم کرد. ژن‌هایی که لوئیس کشف کرد «**ژن‌های هومئوتیک**[2]» نامیده می‌شوند و قالب‌بندی را در مراحل انتهایی جنینی، لاروی و مگس بالغ کنترل می‌کنند.

در مورد قالب‌بندی در مراحل ابتدایی تکوین جنین تا ۳۰ سال بعد یافتهٔ جدیدی به‌دست نیامد تا اینکه دو محقق آلمانی به‌نام کریستین ولهارد[3] و اریک ویشهاس[4]، «تمام» ژن‌هایی که در دروزوفیلا تشکیل بند را تحت تأثیر قرار می‌دهند، شناسایی کردند.





◄ **شکل ۲۰- ۱۸ قالب بندی غیرطبیعی در دروزوفیلا.** *جهش در ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ خاصی به نام ژن‌های هومئوتیک باعث قرار گرفتن نابه‌جای ساختمان‌های یک جانور می‌شود. این تصاویر، سر یک مگس طبیعی که یک جفت آنتن کوچک دارد را با نوع جهش‌یافتهٔ هومئوتیک که یک جفت پا در محل آنتن دارد، مقایسه می‌کنند.*

1- Edward B. Lewis
2- Homeotic genes
3- Christiane Nüsslein-Volhard
4- Eric Wieschaus

این پروژه به سه دلیل بسیار مشکل بود. نخست، تعداد زیاد ژن‌های دروزوفیلا بود که امروزه در حدود ۱۳۷۰۰ عدد شناسایی شده است. ژن‌هایی که روی بندسازی تأثیر دارند، مانند چند سوزن در انبار کاه هستند یا اینکه آنقدر متعدد و متنوعند که ممکن است محققان از بررسی آنها عاجز باشند. دوم، جهش‌هایی که باعث تغییر چنان فرایند با اهمیتی یعنی بندبند شدن می‌شوند، مطمئناً **کشندهٔ جنینی**[1]، هستند. این جهش‌ها باعث مرگ در مرحلهٔ جنینی یا لاروی می‌شوند. چون موجوداتی که دچار جهش کشنده می‌شوند هرگز تولیدمثل نمی‌کنند، نمی‌توان آنها را برای ادامهٔ مطالعه مورد آمیزش قرار داد. محققان با این مشکل به این نحو کنار آمدند که به‌دنبال جهش‌های مغلوبی گشتند که بتوانند در مگس‌های هتروزیگوس منتشر شوند. سوم، عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی که در شکل‌گیری محور نقش دارند، بنابراین محققان می‌دانستند که باید علاوه بر ژن‌های جنین، ژن‌های مادر را هم بررسی کنند. ما در مورد ژن‌های مادری بعداً بحث خواهیم کرد و فعلاً روی شکل‌گیری محور جلویی ـ عقبی در تخم در حال تکوین تمرکز می‌کنیم.

ولهارد و ویشهاس تحقیقات خود را با قرار دادن مگس‌ها در معرض یک مادهٔ شیمیایی جهش‌زا که گامت‌های مگس را تحت تأثیر قرار می‌داد، شروع کردند. آنها مگس‌های جهش‌دار شده را با هم آمیزش دادند و زاده‌های آنها را از نظر وجود جنین‌های مرده یا لاروهای با بندسازی غیرطبیعی یا سایر نقایص بررسی کردند. برای مثال، برای یافتن ژن‌هایی که محور جلویی ـ عقبی را ایجاد می‌کنند، به‌دنبال جنین‌ها یا لاروهایی گشتند که انتهاهای غیرطبیعی، مانند دو سر یا دو دم، داشته باشند و پیش‌بینی کردند که این ناهنجاری‌ها از جهش‌های ایجاد شده در ژن‌های مادری نشأت می‌گیرد که برای شکل گرفتن طبیعی انتهای سری یا دمی فرزندان لازم هستند.

با استفاده از این روش، ولهارد و ویشهاس سرانجام ۱۲۰۰ ژن اساسی برای قالب‌بندی در طول تکوین جنینی یافتند. از این تعداد، ۱۲۰ عدد برای بندسازی طبیعی ضروری بودند. در طول سال‌های بعدی، این محققان توانستند ژن‌های بندسازی را براساس عملکرد کلی‌شان دسته‌بندی کنند تا بتوانند آنها را مکان‌یابی نموده و تعداد زیادی از آنها را برای مطالعات بعدی در آزمایشگاه کلون کنند. نتیجه، یک درک دقیق مولکولی از مراحل اولیهٔ قالب‌بندی در دروزوفیلا بود.

وقتی نتایج ولهارد و ویشهاس با کارهای قبلی لوئیس ترکیب شد، یک تصویر منسجم از تکوین دروزوفیلا پدیدار گشت. هر سه محقق برای کشفیات خود، در سال ۱۹۹۵ برندهٔ جایزهٔ نوبل شدند.

بیایید در ادامه ژن‌هایی را که ولهارد، ویشهاس و همکارانش برای عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی یافتند بررسی کنیم. این عوامل توسط مادر در سلول تخم قرار می‌گیرند و قالب اولیهٔ جنین را از طریق تنظیم بیان ژن در مناطق مختلف بدن جنین اولیه تعیین می‌کنند.

استقرار محور

همان‌طورکه قبلاً اشاره کردیم، عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی داخل تخم، موادی هستند که به‌صورت اولیه محورهای بدن دروزوفیلا را برقرار می‌کنند. این مواد توسط ژن‌های مادری رمز می‌شوند. این ژن‌ها را با توجه به عملکردشان ژن‌های اثرگذار مادری می‌نامند. یک **ژن اثرگذار مادری**[2] ژنی است که اگر دچار جهش شود، صرف نظر از اینکه ژنوتیپ خود جنین چه باشد، یک فنوتیپ جهش‌دار ایجاد می‌کند. در مورد تکوین مگس سرکه، mRNA یا محصولات پروتئینیِ ژن‌های اثرگذار مادری، در حالی که تخم هنوز در تخمدان مادر است، در آن قرار می‌گیرند. اگر مادر در این ژن‌ها دچار جهش شود، یک محصول ژنی معیوب ایجاد می‌کند، یا هیچ محصولی ایجاد نمی‌کند. بنابراین تخم‌های آن معیوب هستند و وقتی این تخم‌ها بارور شوند نمی‌توانند به درستی تکوین پیدا کنند.

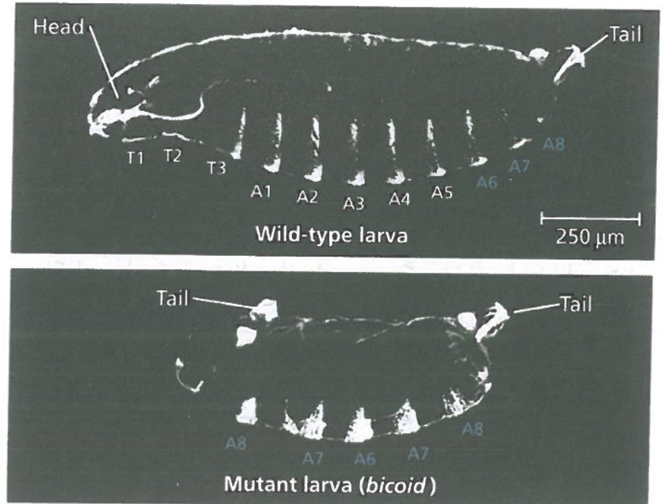
چون این ژن‌ها، جهت‌گیری (قطبیت) تخم و متعاقباً مگس را کنترل می‌کنند، «**ژن‌های قطبیت - تخم**[3]» هم نامیده می‌شوند. گروهی از این ژن‌ها، محور جلویی ـ عقبی و یک گروه دیگر، محور پشتی ـ شکمی را ایجاد می‌کنند. همانند جهش‌های ایجاد شده در ژن‌های بندسازی، جهش‌های ایجاد شده در ژن‌های اثرگذار مادری هم به‌کلی باعث مرگ جنین می‌شوند.

بی‌کوئید[4] : یک ژن ریخت‌زا[5] که ساختار سر را تعیین می‌کند

برای اینکه ببینیم ژن‌های اثرگذار مادری چگونه محورهای بدن را تعیین می‌کنند، روی یکی از این ژن‌ها به نام **بی‌کوئید** تمرکز می‌کنیم. کلمهٔ بی‌کوئید به‌معنی «دو دُم[6]» می‌باشد. جنینی که مادرش یک ژن بی‌کوئید جهش‌یافته دارد، نیمهٔ جلویی بدنش را نخواهد داشت، در عوض ساختارهای عقبی در هر دو انتها تشکیل می‌دهد (**شکل ۲۱- ۱۸**). این فنوتیپ برای ولهارد و همکارانش پیشنهاد کرد که محصول ژن بی‌کوئید مادری، برای ساخته شدن

1- Embryonic lethals

2- Maternal effect gene
3- Egg-polarity genes
4- Bicoid
5- Morphogen
6- Two-tailed



◀ **شکل ۲۱-۸ اثر ژن بی‌کوئید بر روی تکوین دروزوفیلا.** یک لارو مگس سرکهٔ وحشی دارای یک سر، سه قطعهٔ سینه‌ای (T)، هشت قطعهٔ شکمی (A) و یک دم است. لاروی که مادر آن دارای دو الل جهش یافته از ژن بی‌کوئید است دارای دو دم است و فاقد تمامی ساختارهای جلویی می‌باشد (LM).

انتهای جلویی بدن جنین و مگس ضروری است. این فرضیه، که فرضیهٔ گرادیان مورفوژن[1] (شیب غلظت مواد ریخت‌زا) نامیده می‌شود، یک مثال اختصاصی است که اولین‌بار حدود یک قرن پیش توسط جنین‌شناسان مطرح شد. طبق این فرضیه، شیب غلظت موادی که «**مورفوژن**» (مواد ریخت‌زا) نامیده می‌شوند، محورهای بدن جنین و سایر خصوصیات شکلی آن را می‌سازند.

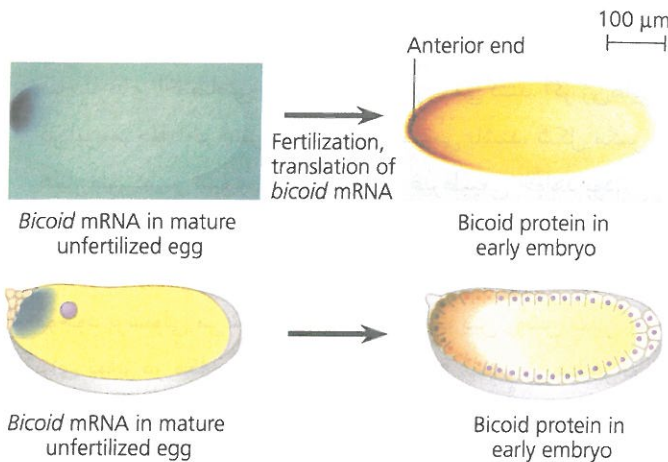
فن‌آوری DNA و سایر روش‌های بیوشیمیایی جدید محققان را قادر ساخت تا این فرضیه را که در حقیقت محصول ژن بی‌کوئید ریخت‌زایی است که انتهای جلویی مگس را تعیین می‌کند، بررسی کنند. اولین سؤالی که آنها مطرح کردند این بود که آیا mRNA و پروتئین‌های محصول این ژن‌ها در محلی از تخم قرار می‌گیرد که با فرضیه هماهنگ باشد؟ آنها دیدند همان‌طورکه فرضیه پیش‌بینی کرده بود، mRNAهای بی‌کوئید در جلویی‌ترین نقطهٔ تخم بالغ به شدت تجمع یافته‌اند (**شکل ۲۲-۱۸**). بعد از بارور شدن تخم، mRNAها به پروتئین ترجمه می‌شوند. سپس پروتئین بی‌کوئید از انتهای جلویی به انتهای عقبی انتشار می‌یابد و باعث ایجاد یک شیب غلظت پروتئینی در جنین ابتدایی می‌شود، به‌طوری‌که بیشترین غلظت پروتئین در انتهای جلویی جنین می‌باشد. این نتایج با این فرضیه که پروتئین بی‌کوئید مسئول ایجاد انتهای جلویی مگس است، هم‌خوانی دارند. دانشمندان برای اینکه آزمایش را اختصاصی‌تر کنند، mRNA بی‌کوئید خالص را به قسمت‌های

1- Morphogen gradient hypothesis

◀ **شکل ۲۲-۱۸** پژوهش

آیا بی‌کوئید، یک ریخت‌زا است که انتهای جلویی مگس سرکه را تعیین می‌کند؟

آزمایش: کریستین ولهارد و همکارانش در آزمایشگاه زیست‌شناسی مولکولی در آلمان، با استفاده از رویکردی ژنتیکی برای مطالعهٔ تکوین دروزوفیلا، جنین‌ها و لاروهای بسیاری با نقایصی در الگوهای بدنی به‌دست آوردند که بعضی از آنها به دلیل جهش‌هایی در ژن‌های مادری بود. یکی از چنین ژن‌هایی، بی‌کوئید به‌معنی «دارای دو دُم» نامیده شد، زیرا جهش در آن باعث ایجاد لاروهایی با دو دُم و بدون سر می‌شود. محققان این فرضیه را ارایه کردند که بی‌کوئید به‌طور طبیعی، ریخت‌زایی را رمز می‌کند که انتهای سری (جلویی) جنین را مشخص می‌کند. برای آزمودن این فرضیه، آنها از تکنیک‌هایی مولکولی استفاده کردند تا مشخص کنند که mRNA و پروتئین رمز شده توسط این ژن، در کدام بخش از تخم بارور شده و جنین ابتدایی یافت می‌شوند.



نتایج: mRNAی بی‌کوئید (آبی‌تیره) در انتهای جلویی تخم بارورشده تمرکز یافت. سپس طی تکوین، پروتئین بی‌کوئید در سلول‌هایی در انتهای جلویی جنین، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج از این فرضیه حمایت کردند که پروتئین بی‌کوئید یک ریخت‌زا است که تشکیل ساختارهای اختصاصی سر را مشخص می‌کند.

چه می‌شد اگر؟ ***اگر این فرضیه درست است، پیش‌بینی کنید اگر شما mRNAی بی‌کوئید را وارد انتهای جلویی تخمک یک مگس ماده که دارای ژن بی‌کوئید جهش یافته و غیر فعال است می‌کردید، چه اتفاقی می‌افتاد.***

مختلف جنین ابتدایی تزریق می‌کردند. پروتئینی که از ترجمهٔ این mRNAها ساخته شد، ساختمان‌های جلویی را در محل تزریق ایجاد کرد.

مطالعهٔ بی‌کوئید به چندین دلیل یک تحقیق خارق‌العاده بود. اول اینکه، باعث شناسایی یک پروتئین خاص شد که برای ابتدایی‌ترین مراحل قالب‌بندی جنین لازم است. بنابراین به ما کمک کرد تا بفهمیم چگونه قسمت‌های مختلف تخم، سلول‌هایی را ایجاد می‌کنند که وارد مسیرهای تکوینی مختلفی می‌شوند. دوم، دانسته‌های ما را در مورد نقش اساسی مادر در مراحل اولیهٔ تکوین جنینی، افزایش داد. (همان‌طورکه یک زیست‌شناس تکوینی در

مورد آن گفته است، «مادر به جنین می‌گوید کدام راه درست است.»
و در آخر، این اصل که شیب غلظت ریخت‌زاها (مواد شکل‌زا) می‌توانند قطبیت و مکان را برای جنین تعیین کنند، به‌عنوان یک مفهوم تکوینی کلیدی برای تعداد زیادی از گونه‌ها شناخته شد، درست همان‌طورکه جنین‌شناسان در مورد آن فکر می‌کردند.

در دروزوفیلا، اختلاف غلظت پروتئین‌های خاصی که انتهای جلویی و عقبی را تعیین می‌کنند، مسئول ایجاد محور پشتی - شکمی هم می‌باشند. زمانی که این مگس رشد می‌کند به مرحله‌ای می‌رسد که این برنامهٔ جنینی بیان ژن به پایان می‌رسد و mRNAهای مادری بایستی تجزیه شوند. در ادامه، اطلاعات موقعیتی که به‌طور بسیار دقیق عمل می‌کنند، باعث ساخت تعداد خاصی بند با جهت‌گیری مناسب می‌شوند و سرانجام شکل‌گیری ساختارهای اختصاصی هر بند را راه‌اندازی می‌کنند. اگر ژن‌هایی که در این مرحلهٔ آخر عمل می‌کنند غیرطبیعی باشند، شکل مگس بالغ همان‌طورکه در تصویر ۲۰- ۱۸ دیدید غیرطبیعی خواهد بود.

در این قسمت، ما دیدیم که چگونه یک برنامهٔ هدایت‌شدهٔ دقیق از تنظیم ترتیبی ژن‌ها، باعث تبدیل شدن یک تخم بارور به یک موجود پرسلولی می‌شود. این برنامه به دقت بین روشن شدن ژن‌ها برای تمایز در مکان مناسب و خاموش شدن سایر ژن‌ها در تعادل است. حتی زمانی‌که یک موجود زنده کاملاً تکوین‌یافته باشد تنظیم بیان ژن با همان روش دقیق، ادامه پیدا می‌کند. در قسمت آخر این فصل ما خواهیم دید که این تنظیم چقدر دقیق است و چگونه تغییرات خاص در بیان یک یا چند ژن باعث ایجاد سرطان می‌شود.

پرسش‌های مبحث ۴-۱۸

۱. همان‌طورکه در فصل ۱۲ آموختید، میتوز، دو سلول دختر ایجاد می‌کند که از نظر ژنتیکی با سلول والد یکسانند. با این حال، شما که حاصل تعداد زیادی تقسیم میتوز هستید از سلول‌های مشابه تشکیل نشده‌اید، چرا؟

۲. مولکول‌های پیام‌رسان که از یک سلول جنینی آزاد می‌شوند می‌توانند باعث ایجاد تغییرات در سلول‌های مجاور شوند بدون اینکه داخل آنها بروند. چگونه؟

۳. چرا ژن‌های تأثیرگذار مادری در مگس سرکه، ژن‌های قطبیت - تخم هم نامیده می‌شوند؟

۴. **چه می‌شد اگر؟** در مستطیل موجود در شکل ۱۷b- ۱۸ سلول پایینی در حال ساخت مولکول‌های پیام‌رسان است، درحالی‌که سلول بالایی گیرنده‌های پیام‌رسان را بیان می‌کند. با توجه به مقولهٔ تنظیم ژن، توضیح دهید که چگونه این دو سلول ممکن است فعالیت‌های متفاوتی داشته باشند؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۵-۱۸ سرطان از تغییرات ژنتیکی که کنترل چرخهٔ سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ناشی می‌شود

در فصل ۱۲، ما سرطان را به‌عنوان مجموعه‌ای از بیماری‌ها شناختیم که در آنها سلول‌ها از فرایندهای تنظیمی که به‌صورت طبیعی رشدشان را محدود می‌نمایند، فرار می‌کنند. حال که پایهٔ مولکولی بیان ژن و تنظیم آن‌را بررسی کرده‌ایم، آماده‌ایم تا به سرطان به‌طور دقیق‌تری نگاه کنیم. سیستم‌های تنظیم ژنی که در سرطان دچار مشکل می‌شوند همان‌هایی هستند که نقش بسیار مهمی در تکوین جنینی، پاسخ ایمنی و بسیاری از فرایندهای زیستی دیگر دارند. بنابراین تحقیقات روی پایهٔ مولکولی سرطان از مطالعات در سایر رشته‌های زیست‌شناسی هم سود برده است.

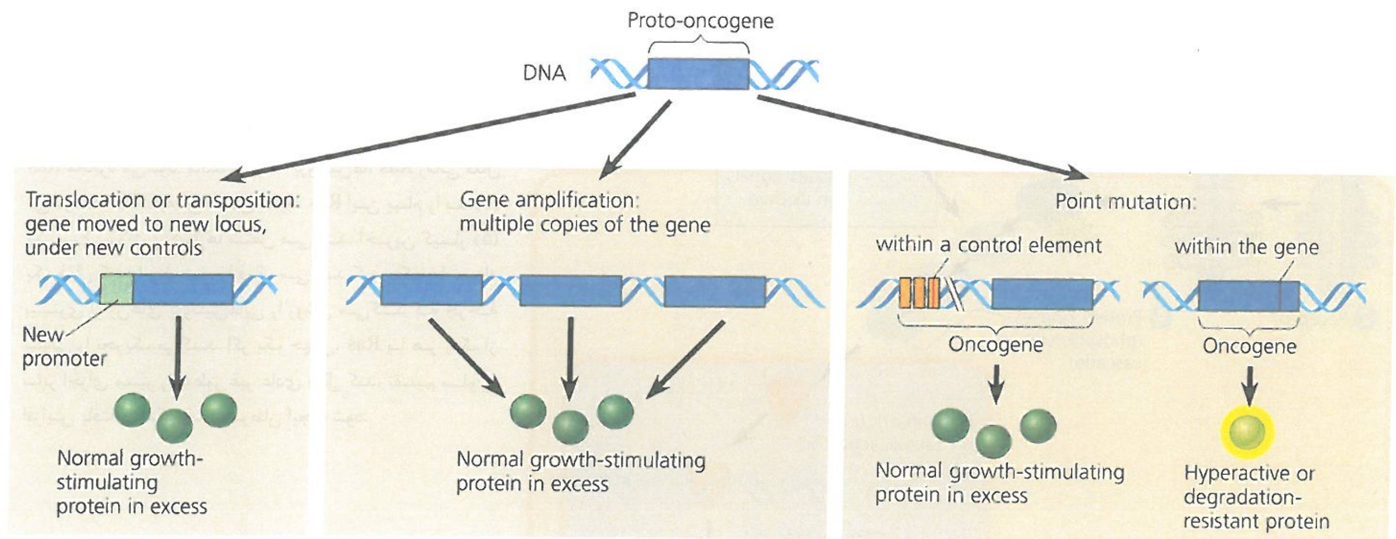
انواعی از ژن‌ها که با سرطان در ارتباطند

ژن‌هایی که به‌صورت طبیعی رشد و تقسیم سلول را در طول چرخهٔ سلولی تنظیم می‌کنند، شامل ژن‌های عوامل رشد، گیرنده‌های آنها و مولکول‌های داخل‌سلولی مربوط به مسیرهای پیام‌رسانی هستند. (برای مرور چرخهٔ سلول، فصل ۱۲ را ببینید.) جهش‌هایی که هریک از این ژن‌ها را در سلول‌های سوماتیک (بدنی) تغییر دهند می‌توانند سرطان ایجاد کنند. عامل چنان تغییری می‌تواند یک جهش خودبه‌خودی تصادفی باشد. با این حال، بیشتر جهش‌های مولد سرطان از اثرات محیطی، مانند سرطان‌زاهای شیمیایی، اشعهٔ X و سایر اشعه‌های با انرژی بالا و بعضی ویروس‌های خاص ناشی می‌شوند.

تحقیقات روی سرطان باعث کشف ژن‌های ایجادکنندهٔ سرطان به‌نام **آنکوژن‌ها**[1] (از کلمهٔ یونانی انکو به معنی تومور) شد که در ویروس‌های خاصی وجود دارند. پس از آن، ژن‌های مشابه با این انکوژن‌ها، در ژنوم انسان‌ها و حیوانات یافت شد. این نسخه‌های طبیعیِ ژن‌های سلولی که **پروتو ـ آنکوژن‌ها**[2] نامیده می‌شوند، مسئول رمز کردن پروتئین‌هایی هستند که رشد طبیعی سلول و تقسیم آن را تحریک می‌کنند.

چگونه ممکن است یک پروتو ـ انکوژن، یک ژن که عملکرد اساسی در سلول‌های طبیعی دارد، تبدیل به انکوژنی شود که سرطان ایجاد می‌کند؟ به‌طورکلی، انکوژن از یک تغییر ژنتیکی ایجاد می‌شود که باعث افزایش در مقدار محصول پروتئینیِ پروتو- انکوژن یا افزایش فعالیت درونیِ هر مولکول پروتئینی می‌گردد. تغییرات ژنتیکی که پروتو - انکوژن‌ها را به انکوژن تبدیل می‌کنند

1- Oncogenes
2- Proto-oncogenes



شکل ۲۳- ۱۸ **تغییرات ژنتیکی که می‌توانند پرتو ـ انکوژن را به انکوژن تبدیل کنند.**

در سه دستهٔ اصلی قرار می‌گیرند: حرکت DNA در طول ژنوم، مضاعف‌شدن پروتو-انکوژن و جهش‌های نقطه‌ای در قطعات تنظیمی یا خود پروتو ـ انکوژن (**شکل ۲۳- ۱۸**).

سلول‌های سرطانی، به‌طور شایع، کروموزوم‌هایی دارند که شکسته‌اند و به شکل نادرستی دوباره به هم متصل شده‌اند، همچنین حاوی قطعات منتقل‌شده از یک کروموزوم به کروموزوم دیگر هستند (شکل ۱۴- ۱۵ را ببینید). حال که آموخته‌اید بیان ژن چگونه تنظیم می‌شود می‌توانید عواقب احتمالی چنین تغییر مکان‌هایی را درک کنید. اگر یک پروتو ـ انکوژن جابه‌جاشده، کنار یک راه‌انداز بسیار فعال قرار بگیرد (یا یک قطعهٔ کنترلی دیگر)، رونویسی آن افزایش پیدا می‌کند و به یک انکوژن تبدیل می‌شود. نوع دوم از تغییرات ژنتیکی، یعنی مضاعف شدن، باعث افزایش کپی‌های یک پروتو- انکوژن درون سلول می‌شود. سومین احتمال، رخ دادن یک جهش نقطه‌ای است که: (۱) درون راه‌انداز یا افزایندهٔ یک پروتو- انکوژن رخ دهد و باعث افزایش بیان آن شود یا (۲) در یک توالی رمزکننده رخ دهد و محصول ژن را به پروتئینی تغییر دهد که فعال‌تر است یا اینکه نسبت به تجزیه شدن از پروتئین طبیعی مقاوم‌تر می‌باشد. تمام این مکانیسم‌ها می‌توانند باعث تحریک غیرطبیعی چرخهٔ سلولی شوند و سلول را در مسیر بدخیمی قرار دهند.

ژن‌های سرکوب‌گر تومور

علاوه بر ژن‌هایی که محصولات آنها به‌طور طبیعی تقسیم سلول را تقویت می‌کنند، سلول‌ها همچنین ژن‌هایی دارند که محصولات آنها تقسیم شدن سلول را به‌طور طبیعی مهار می‌کنند. این ژن‌ها، «**ژن‌های سرکوب‌گر تومور**[1]» نامیده می‌شوند زیرا پروتئین‌هایی را رمز می‌کنند که از رشد کنترل‌نشدهٔ سلول جلوگیری به‌عمل می‌آورند. هر جهشی که فعالیت طبیعی پروتئین‌های سرکوب‌گر تومور را کاهش دهد، به شروع شدن سرطان کمک می‌کند، زیرا در نبود سرکوب، رشد تحریک می‌شود.

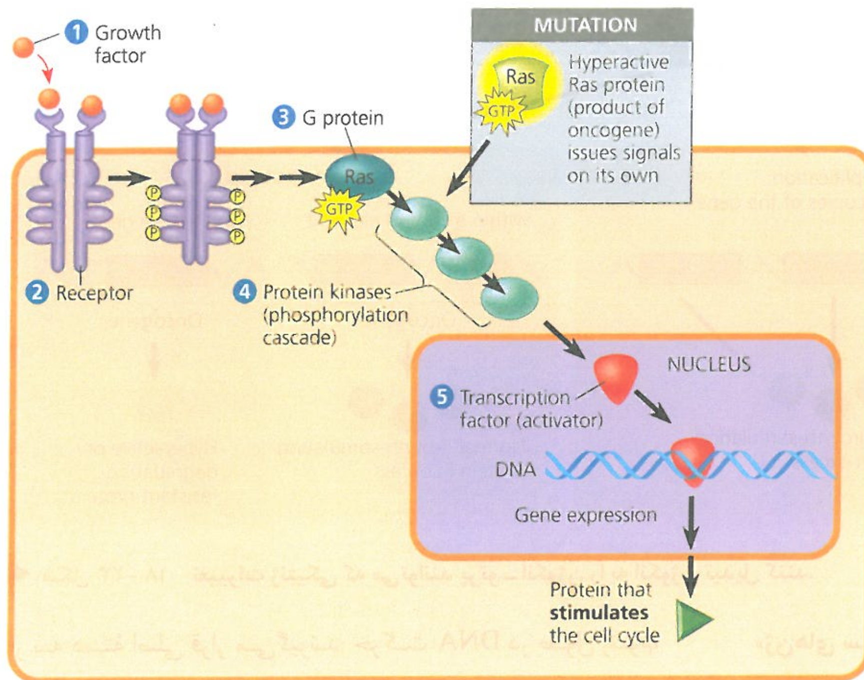
محصولات پروتئینی ژن‌های سرکوب‌گر تومور، عملکردهای متعددی دارند. بعضی از پروتئین‌های سرکوب‌گر تومور به‌صورت طبیعی، DNA آسیب‌دیده را ترمیم می‌کنند، بنابراین از تجمع جهش‌های سرطان‌زا در سلول جلوگیری به‌عمل می‌آورند. سایر پروتئین‌های سرکوب‌گر تومور، چسبندگی سلول‌ها به یکدیگر و به ماتریکس خارج‌سلولی را کنترل می‌کنند. چسبندگی مناسب سلولی برای بافت‌های طبیعی حیاتی است و معمولاً در سرطان‌ها دچار مشکل می‌شود. انواع دیگری از پروتئین‌های سرکوب‌گر تومور از اجزای مسیرهای پیام‌رسانی سلولی هستند که چرخهٔ سلولی را مهار می‌کنند.

تداخل با مسیرهای طبیعی پیام‌رسانی سلولی

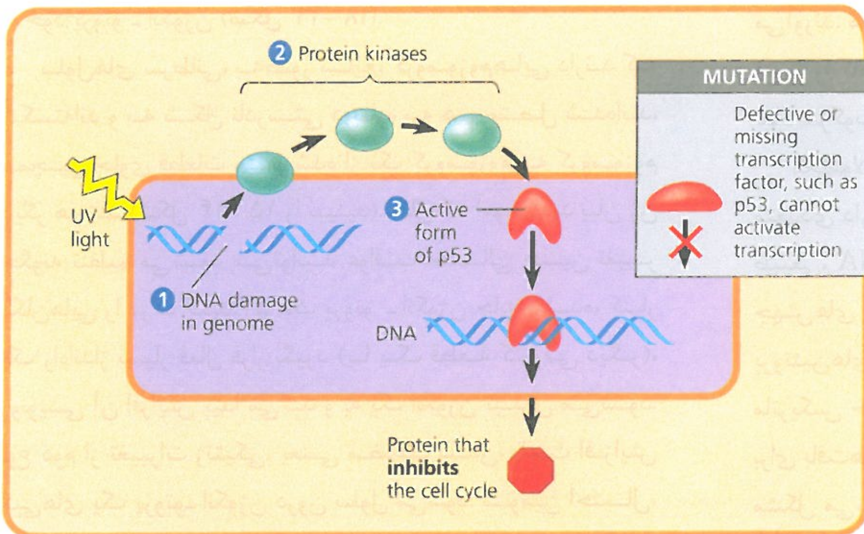
پروتئین‌های رمز شده توسط بسیاری از پروتو- انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور از اجزای مسیرهای پیام‌رسانی سلولی هستند. بیایید نگاهی دقیق‌تر به نحوهٔ عملکرد این پروتئین‌ها در سلول‌های طبیعی بیاندازیم و بررسی کنیم که در سلول‌های سرطانی چه تغییری می‌کنند. ما روی محصولات دو ژن کلیدی تمرکز خواهیم کرد. پروتو ـ انکوژن *ras* و ژن سرکوب‌گر تومور *p۵۳*. جهش در *ras* در ۳۰ درصد سرطان‌های انسانی و جهش در p۵۳ در بیشتر از ۵۰ درصد آنها رخ می‌دهد.

1- Tumor - suppressor genes

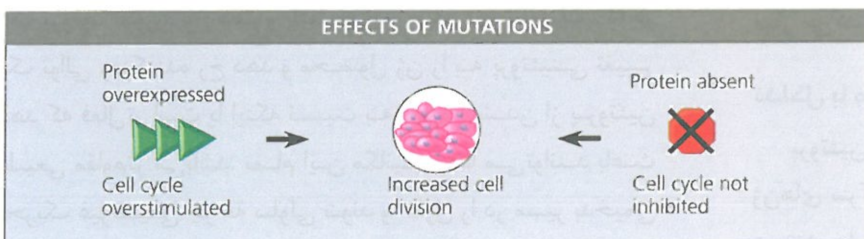
(a) مسیر تحریکی چرخهٔ سلولی. این مسیر توسط (۱) یک فاکتور رشد آغاز می‌شود که به (۲) گیرندهٔ خود در غشای پلاسمایی متصل می‌شود. این پیام به (۳) یک G پروتئین به نام Ras مخابره می‌شود. مانند سایر G پروتئین‌ها، Ras زمانی فعال می‌شود که GTP به آن متصل شود. Ras این پیام را به (۴) یک سری پروتئین کینازها منتقل می‌کند. آخرین کیناز (۵) یک فعال کنندهٔ رونویسی را فعال می‌کند که یک یا تعداد بیشتری از ژن‌های پروتئین‌هایی را روشن می‌کند که چرخهٔ سلولی را تحریک می‌کنند. اگر یک جهش، Ras یا هر یک از سایر اجزای مسیر را به‌طور غیر عادی فعال کند، تقسیم سلولی افزایش یافته و ممکن است سرطان ایجاد شود.



(b) مسیر مهاری چرخهٔ سلولی. در این مسیر (۱) آسیب‌دیدگی DNA یک پیام درون‌سلولی است که توسط (۲) پروتئین کینازها انتقال یافته و موجب فعال‌سازی (۳) p۵۳ می‌شود. p۵۳ فعال‌شده، رونویسی ژن پروتئینی را پیش می‌برد که چرخهٔ سلولی را مهار می‌کند. مهار تقسیم سلولی، مانع همانندسازی DNA آسیب‌دیده می‌شود. اگر DNAی آسیب دیده، غیر قابل ترمیم باشد، پیام p۵۳ موجب مرگ برنامه‌ریزی شدهٔ سلولی (آپوپتوز) می‌شود. جهش‌هایی که موجب نقص در هریک از اجزای مسیر می‌شوند، می‌توانند موجب بروز سرطان شوند.



(c) اثرات جهش‌ها. افزایش تقسیم سلولی و احتمالاً ایجاد سرطان، زمانی می‌تواند رخ دهد که چرخهٔ سلولی زیادی تحریک شود (مانند آنچه در (a) دیده می‌شود)، یا چرخهٔ سلولی به‌طور عادی مهار نشود (همان‌طور که در (b) دیده می‌شود).



◄ **شکل ۲۴-۱۸ مسیرهای پیام‌رسانی که تقسیم سلول را تنظیم می‌کنند.** *هر دو مسیرهای مهاری و تحریکی، چرخهٔ سلولی را اغلب از طریق تأثیر بر رونویسی تنظیم می‌کنند. سرطان می‌تواند از اختلال در این مسیرها ناشی شود. این اختلال می‌تواند در اثر جهش باشد یا به‌صورت خودبه‌خودی انجام پذیرد و یا با تغییرات محیطی شروع شود.*

چه می‌شد اگر؟ *به مسیر (b) نگاه کنید. توضیح دهید که یک جهش سرطان‌زا در یک ژن سرکوب‌گر تومور مانند p۵۳ بیشتر احتمال دارد یک جهش مغلوب باشد یا یک جهش غالب؟*

پروتئین Ras که توسط ژن *ras* (اولین‌بار به‌خاطر سارکومای رَت[1] (یک سرطان بافت همبند)، Ras نامیده شده است) رمز می‌شود، یک G پروتئین است که پیام را از گیرندهٔ یک فاکتور رشد روی غشای پلاسمایی به آبشاری از پروتئین کینازها منتقل می‌کند (فصل ۷-۱۱ را ببینید). پاسخ سلولی در انتهای این مسیر، ساخت پروتئینی است که چرخهٔ سلولی را تحریک می‌کند (**شکل ۲۴a– ۱۸**). به‌صورت طبیعی، این چرخه تا زمانی که به‌وسیلهٔ فاکتور رشد مناسب راه‌اندازی نشود، عمل نمی‌کند. ولی بعضی جهش‌های خاص در ژن *ras* می‌توانند پروتئین Ras بیش‌فعالی تولید کنند که حتی در غیاب فاکتور رشد، آبشار کینازی را فعال کند و باعث افزایش تقسیم سلولی شود. در واقع نسخه‌های بیش‌فعال یا مقادیر اضافی از هریک از اجزای مسیر، نتیجهٔ یکسانی دارند: تقسیم سلولی بیش از اندازه.

شکل ۲۴b– ۱۸ مسیری را نشان می‌دهد که در آن یک پیام باعث ساخت پروتئینی می‌شود که چرخهٔ سلولی را سرکوب می‌کند. پیام در این مورد، احتمالاً آسیب به DNA سلولی در اثر تماس با پرتو فرابنفش می‌باشد. عملکرد این مسیر پیام‌رسانی باعث می‌شود تا چرخهٔ سلولی تا زمانی که آسیب ترمیم شود، متوقف گردد. در غیر این صورت آسیب ممکن است با ایجاد کردن جهش یا نقایص کروموزومی، باعث تشکیل تومور شود. بنابراین ژن‌هایی که اجزای این مسیر را رمز می‌کنند به‌عنوان ژن‌های سرکوب‌گر تومور عمل می‌کنند. **ژن *p۵۳*** که به‌علت وزن ۵۳۰۰۰ دالتونی محصول پروتئینی‌اش نام‌گذاری شده، یک ژن سرکوب‌گر تومور است. پروتئینی که این ژن رمز می‌کند یک عامل رونویسی است که ساخت پروتئین‌های مهارکنندهٔ چرخهٔ سلولی را راه‌اندازی می‌نماید. به همین علت است که جهشی که ژن p۵۳ را هدف قرار دهد، مانند جهشی که پروتئین Ras بیش‌فعال تولید می‌کند، می‌تواند باعث رشد اضافهٔ سلولی و سرطان شود (**شکل ۲۴c– ۱۸**).

ژن *p۵۳* «فرشتهٔ نگهبان ژنوم» نامیده شده است. اگر این ژن، مثلاً در اثر آسیب به DNA فعال شود، پروتئین *p۵۳* به‌عنوان یک فعال‌کننده برای چندین ژن عمل می‌کند. معمولاً این پروتئین، ژنی به‌نام *p۲۱* را فعال می‌کند که محصول آن چرخهٔ سلولی را از طریق متصل شدن به کینازهای وابسته به سایکلین[2] متوقف می‌سازد و به سلول زمان کافی می‌دهد تا بتواند DNA را ترمیم کند. پروتئین p۵۳ همچنین می‌تواند به‌صورت مستقیم ژن‌های درگیر در ترمیم DNA را هم فعال کند. زمانی که آسیب DNA غیرقابل ترمیم باشد، p۵۳ ژن‌های «خودکشی» را فعال می‌کند که محصولات پروتئینی آنها باعث مرگ سلول از طریق آپوپتوز می‌شوند (شکل ۲۱- ۱۱ را ببینید). بنابراین p۵۳ حداقل از سه طریق از انتقال جهش‌های ناشی از آسیب DNA، جلوگیری می‌کند. اگر جهش‌ها تجمع پیدا کنند و سلول در پی تقسیم‌های متعدد زنده بماند، سرطان به‌وجود می‌آید. احتمال بروز این اتفاق در صورتی‌که ژن سرکوب‌گر تومور *p۵۳*، معیوب یا حذف شده باشد، بیشتر است.

اعمال بسیار p۵۳ شکل پیچیده‌ای از تنظیم را در سلول‌های طبیعی پیشنهاد می‌کند، شکلی که ما هنوز به طور کامل آن را درک نکرده‌ایم. در حال حاضر، دیاگرام شکل ۲۴-۱۸ یک طرح دقیق از چگونگی شرکت جهش در سرطان را نشان می‌دهد، اما ما هنوز به‌طور دقیق نمی‌دانیم که یک سلول بخصوص چگونه به یک سلول سرطانی تبدیل می‌شود. از آنجایی که پیش‌تر جنبه‌های ناشناختهٔ بیان ژن را کشف کرده‌ایم، مطالعهٔ نقش آنها در بروز سرطان، آموزنده است، به عنوان مثال، این مطالعات نشان داده‌اند که الگوهای تغییر هیستون‌ها و متیله شدن DNA در سلول‌های طبیعی و سلول‌های سرطانی با یکدیگر فرق دارند و این که احتمالاً miRNAها در ظهور سرطان نقش دارند. در حالی‌که از طریق مطالعهٔ مسیرهای پیام‌رسانی سلولی، مطالب زیادی در مورد سرطان آموخته‌ایم، اما هنوز مطالب زیادی باقی‌مانده است تا بیاموزیم.

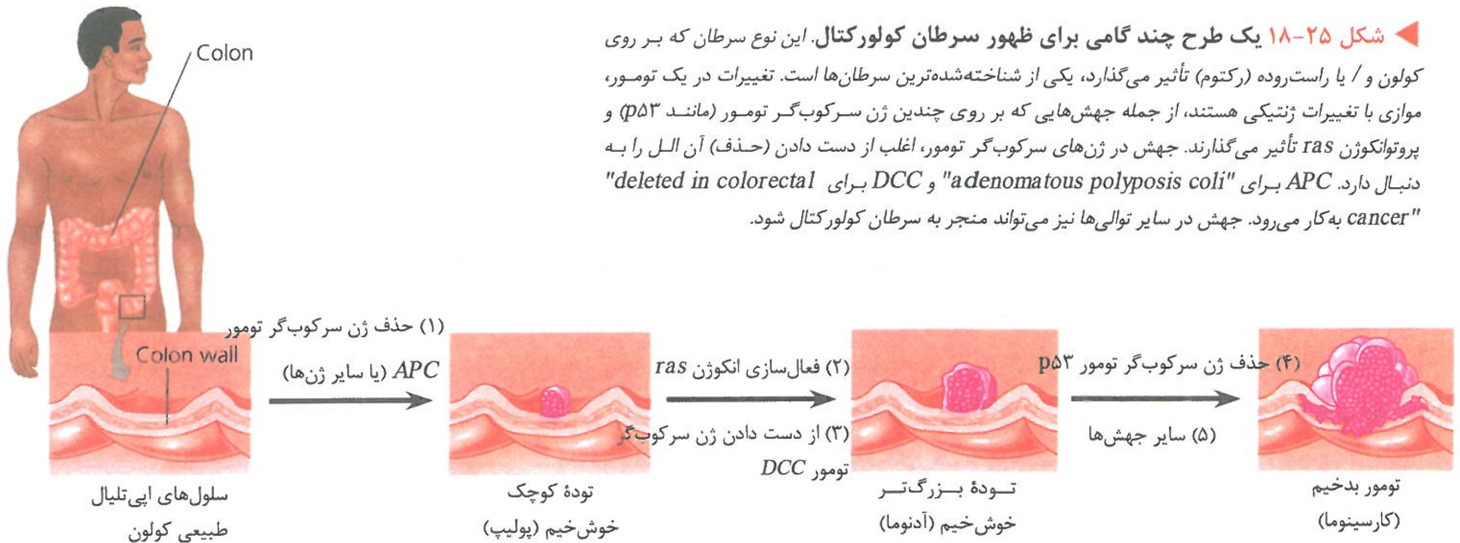
مدل چند مرحله‌ای ایجاد سرطان

معمولاً بیشتر از یک جهش سوماتیک لازم است تا تغییرات اختصاصی یک سلول سرطانی کامل ایجاد شود. این موضوع به توضیح این مسأله که وقوع سرطان با افزایش سن بیشتر می‌شود، کمک می‌کند. اگر سرطان از تجمع جهش‌ها ایجاد شود و جهش‌ها در طول زندگی رخ دهند، هرچه از عمرمان بیشتر بگذرد، احتمال به‌وجود آمدن سرطان هم بیشتر می‌شود.

با مطالعهٔ یکی از آشناترین انواع سرطان‌های انسانی یعنی سرطان کولورکتال[3]، یک الگوی چندمرحله‌ای برای سرطان تأیید شده است. هر سال در ایالات متحده حدود ۱۳۵۰۰۰ مورد جدید سرطان کولورکتال تشخیص داده می‌شود و ۶۰۰۰۰ مورد مرگ در اثر بیماری رخ می‌دهد. مانند بیشتر سرطان‌ها، سرطان کولورکتال هم به‌تدریج ایجاد می‌شود (**شکل ۲۵– ۱۸**). معمولاً اولین نشانه یک پولیپ است که یک تودهٔ کوچک خوش‌خیم در دیوارهٔ کولون می‌باشد. سلول‌های پولیپ، طبیعی به‌نظر می‌رسند ولی به‌طور غیرمعمول سریع تقسیم می‌شوند. تومور رشد می‌کند و ممکن است سرانجام بدخیم شود و به بافت‌های دیگر حمله کند. تشکیل یک

1- **Ra**t Sarcoma
2- Cyclin dependent kinases

3- Colorectal



◄ **شکل ۲۵-۱۸ یک طرح چند گامی برای ظهور سرطان کولورکتال.** *این نوع سرطان که بـر روی کولون و / یا راست‌روده (رکتوم) تأثیر می‌گذارد، یکی از شناخته‌شده‌ترین سرطان‌ها است. تغییرات در یک تومـور، موازی با تغییرات ژنتیکی هستند، از جمله جهش‌هایی که بر روی چندین ژن سـرکوب‌گـر تومـور (مانـند p۵۳) و پروتوانکوژن ras تأثیر می‌گذارند. جهش در ژن‌های سرکوب‌گر تومور، اغلب از دست دادن (حـذف) آن الـل را بـه دنبـال دارد. APC بـرای "adenomatous polyposis coli" و DCC بـرای "deleted in colorectal cancer" به‌کار می‌رود. جهش در سایر توالی‌ها نیز می‌تواند منجر به سرطان کولورکتال شود.*

تومور بدخیم در راسـتای تجمـع تـدریجی جهـش‌هـایی است کـه پروتو ـ انکوژن‌ها را به انکوژن‌ها تبدیل می‌کنند و ژن‌های سرکوب‌گر تومـور را از کـار مـی‌اندازنـد. معمـولاً یـک انکـوژن ras و یـک ژن سرکوبگر تومور P۵۳ جهش‌یافته درگیرند.

حدود ۶ تغییر باید در سطح DNA رخ دهنـد تـا سـلول کـاملاً سرطانی شود. این تعداد شامل پیدایش یک انکوژن فعال و جهش یا حذف چندین ژن سرکوب‌گر تومور می‌باشد. به‌علاوه، چون الل‌هـای جهش‌یافتهٔ سرکوبگر تومور معمولاً مغلوب‌انـد، در بیـشتر مـوارد جهـش باید هر دو الل را در ژنوم هدف قرار دهد تا عملکرد سـرکوبِ تومـوری را از کار بیاندازد. (برعکس، بیشتر انکوژن‌ها به‌صورت الل‌هـای غـالب رفتـار می‌کنند). به دلیل اهمیت نسبی جهش‌های مختلف، اینکه این تغییـرات بایستی به چه ترتیبی رخ دهند، هم‌چنان در دست مطالعه است.

اخیراً، پیشرفت‌هـای فنـی در تـوالی‌یـابی DNA و mRNA بـه پژوهشگران پزشکی اجازه داده تـا ژن‌هـای بیـان‌شـده توسـط انـواع مختلف تومور و ژن‌های بیان‌شده توسـط یـک نـوع تومـور در افـراد مختلف را با هم مقایسه کننـد. ایـن مقایسه موجـب درمـان‌هـای اختصاصی سرطان شده است، که بر پایهٔ ویژگی‌های مولکولی تومـور یک فرد بخصوص هستند (شکل ۲۱-۱۲ را ببینید).

زمینهٔ وراثتی و دیگر عوامل مستعدکنندهٔ سرطان

این واقعیت که چندین تغییر ژنتیکی برای ایجاد شـدن سـرطان لازم هستند کمک می‌کند تا توضیح دهیم چرا سرطان‌ها می‌تواننـد در اعضای مختلف یک خانواده ایجاد شوند. کسی که یک انکوژن یـا یک الل جهش‌یافته از یک ژن سرکوب‌گر تومور را بـه ارث مـی‌برد، نسبت به کسی که هیچ یک از این جهش‌ها را نداشـته باشـد، بـرای جمع‌آوری سایر جهش‌های لازم برای سرطان، یک پله جلوتر است.

متخصصان ژنتیک امروزه برای تشخیص الل‌های وراثتی سرطان تلاش زیادی می‌کنند تا بتوانند زمینهٔ ژنتیکـی بـرای سـرطان‌هـای خاص را در اوایل زندگی مشخص کنند. برای مثـال، حـدود ۱۵٪ از سرطان‌های کولورکتال، دارای جهش‌های وراثتی هستند. بسیاری از این جهش‌ها ژن سرکوب‌گر تومور به‌نام آدنوماتوز پولیپوز کولون[1] یـا APC را تحت تأثیر قرار می‌دهند (شـکل ۲۵- ۱۸ را ببینیـد). ایـن ژن اعمال متفاوتی از جمله تنظیم مهاجرت و چسبندگی سلولی، در سلول انجام می‌دهد. حتی در بیمارانی که هیچ سـابقهٔ خـانوادگی از بیماری ندارنـد، ژن APC در ۶۰٪ مـوارد سـرطان‌هـای کولورکـتال جهش‌یافته است. در این افراد، جهش جدید باید در هـر دو الـل ژن APC رخ دهد تا عملکرد این ژن از بین برود. از آن‌جـایی کـه فقـط ۱۵٪ از سرطان‌های کولورکتال با جهش‌های وراثتی شناخته‌شده در ارتباطند، محققان تلاش خود را برای یافتن «نشانه»هایی که بتواننـد خطر به‌وجود آمدن این سرطان را پیش‌بینی کنند، ادامه می‌دهند.

امـروزه مـدارک قطعـی بـرای وجـود زمینـهٔ قـوی وراثتـی در ۵-۱۰٪ بیماران با سرطان پستان وجود دارد. ایـن دومـین سـرطان شایع در ایـالات متحـده اسـت کـه سـالانه حـدود ۱۸۰۰۰۰ زن (و تعدادی مرد) را درگیر می‌کند و باعث مـرگ ۴۰۰۰۰ نفـر در سـال مـی‌شـود. پـس از ۱۶ سـال تحقیـق، در سـال ۱۹۹۰، ژنتیـک‌دان ماری کینگ (King Mary Claire) به‌طور متقاعدکننـده‌ای نـشان داد که جهش در یک ژن *–BRCA1–* با افزایش اسـتعداد ابـتلا بـه سرطان سینه مرتبط بود، یافته‌ای کـه بـرخلاف نظریـه پزشـکی آن زمان بود. (*BRCA* برای *Breast Cancer* به‌کار می‌رود.) جهش‌هـا در آن ژن یا ژن مشابه *BRCA2* حـداقل در نیمـی از سـرطان‌هـای

1- Adenomatous polyposis coli

ارثی سینه دیده شده‌اند و آزمایش‌های استفاده از توالی‌یابی DNA می‌توانند این جهش‌ها را آشکار سازند (**شکل ۲۶-۱۸**). زنی که یک الل جهش‌یافتهٔ *BRCA1* را به ارث می‌برد ۶۰٪ احتمال دارد تا قبل از سن ۵۰ سالگی دچار سرطان پستان شود. درصورتی‌که این عدد برای فرد هوموزیگوس برای الل طبیعی فقط ۲٪ است. هر دو ژن *BRCA1* و *BRCA2* ژن‌های سرکوب‌گر تومور به‌حساب می‌آیند زیرا نوع طبیعی آنها از ایجاد سرطان پستان جلوگیری می‌کند و الل‌های جهش‌یافته، مغلوب هستند. ظاهراً پروتئین‌های BRCA1 و BRCA2 هر دو در مسیر ترمیم آسیب DNA سلول عمل می‌کنند. در مورد عملکرد BRCA2 اطلاعات بیشتری وجود دارد. این پروتئین همراه با یک پروتئین دیگر به ترمیم شکستگی‌هایی که در هر دو رشتهٔ DNA رخ می‌دهند، کمک می‌کنند. این کار برای حفظ DNA سالم در هستهٔ سلولی ضروری است.

چون شکستگی DNA به ایجاد شدن سرطان کمک می‌کند، منطقی است که ریسک سرطان با به حداقل رساندن عوامل آسیب‌رسان به DNA، مانند پرتوهای فرابنفش نور خورشید یا مواد شیمیایی که در دود سیگار وجود دارند، کاهش می‌یابد. روش‌های جدیدی برای تشخیص و درمان زودهنگام بعضی سرطان‌های خاص به‌وجود آمده‌اند که وابسته به تکنیک‌های آنالیز و احتمالاً تداخل با بیان ژن در تومورها می‌باشند. چنین روش‌هایی ممکن است مرگ ناشی از سرطان را کاهش دهند.



شکل ۲۶-۱۸ آزمایش جهش‌ها در *BACA1* و *BRCA2*. *آزمایش ژنتیکی جهش‌هایی که خطر سرطان سینه را افزایش می‌دهند، برای افراد دارای سابقهٔ خانوادگی سرطان سینه در دسترس است. روش‌های توالی‌یابی جدید با کارآیی بالا[1]، می‌توانند نمونه‌های DNAی بسیاری را هم‌زمان توالی‌یابی کنند (همان‌طور که در اینجا نشان داده شده است).*

مطالعهٔ ژن‌هایی که با سرطان در ارتباطند، چه وراثتی و چه غیروراثتی، درک ما را در مورد چگونگی ایجاد شدن این بیماری در اثر از بین رفتن تنظیم ژن طبیعی، بالا می‌برند. علاوه بر جهش‌ها و سایر تغییرات ژنتیکی که در این بخش توضیح داده شدند، تعدادی از *ویروس‌های توموری* می‌توانند در جانوران مختلف از جمله انسان‌ها، موجب سرطان شوند. در حقیقت، یکی از ابتدایی‌ترین پیشرفت‌ها در درک سرطان در سال ۱۹۱۱ به‌وجود آمد، هنگامی که پیتون روس (Peyton Rous)، یک بیماری‌شناس امریکایی، ویروسی را کشف کرد که باعث ایجاد سرطان در جوجه‌ها می‌شد. ویروس اپشتین‌بار، که موجب مونونوکلئوز عفونی می‌شود، با برخی از سرطان‌های انسانی، به‌طور شاخص سندرم بورکیت، مرتبط بوده است. پاپیلوما ویروس‌ها با سرطان گردن رحم در ارتباط هستند و ویروسی به نام HTLV-1 باعث نوعی لوسمی بالغین می‌شود. به‌نظر می‌رسد ویروس‌ها در حدود ۱۵٪ از موارد سرطان انسانی، در سرتاسر جهان، نقش دارند.

در ابتدا شاید ویروس‌ها با جهش‌ها، به عنوان یک عامل سرطان، متفاوت به‌نظر برسند. اما، اکنون می‌دانیم که اگر ویروس‌ها مادهٔ ژنتیکی‌شان را وارد DNAی یک سلول کنند، می‌توانند به طرق مختلف در تنظیم ژن دخالت کنند. درج مادهٔ ژنتیکی ویروس ممکن است یک انکوژن را وارد آن سلول کند، یک ژن سرکوب‌گر تومور را تخریب کند، یا یک پروتو-انکوژن را به یک انکوژن تبدیل کند. علاوه براین، برخی ویروس‌ها، پروتئین‌هایی را تولید می‌کنند که p۵۳ و سایر پروتئین‌های سرکوب‌گر تومور را غیر فعال می‌کنند و سلول را بیش‌تر مستعد سرطانی شدن می‌کنند. ویروس‌ها عوامل زیستی قوی هستند و در مورد عملکرد آنها در فصل ۱۹ بیشتر خواهید آموخت.

پرسش‌های مبحث ۵-۱۸

۱- ارتباط دهید پروتئین p۵۳ می‌تواند ژن‌های دخیل در آپوپتوز، یا مرگ برنامه‌ریزی شدهٔ سلولی را فعال کند. مبحث ۵-۱۱ را مطالعه کنید و توضیح دهید چگونه جهش در ژن‌های کد کنندهٔ پروتئین‌های درگیر در آپوپتوز می‌تواند موجب سرطان شود.

۲. در چه شرایطی برای سرطان، یک جزء وراثتی در نظر گرفته می‌شود؟

۳. چه می‌شد اگر؟ توضیح دهید جهش‌هایی که باعث ایجاد سرطان از طریق اثر بر پروتو-انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور می‌شوند، از نظر اثری که بر فعالیت محصول ژن می‌گذارند چه تفاوتی با هم دارند؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

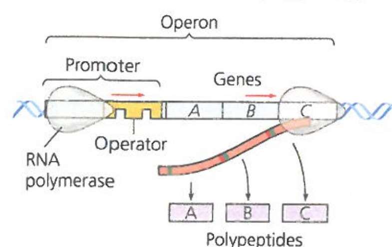
1- High-throughput

17 مرور فصل

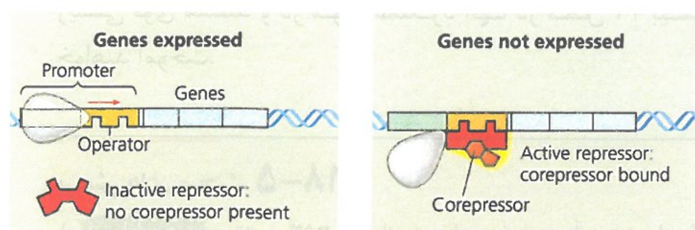
خلاصه مفاهیم کلیدی

۱-۱۸ باکتری‌ها اغلب از طریق تنظیم رونویسی، به تغییرات محیطی واکنش نشان می‌دهند

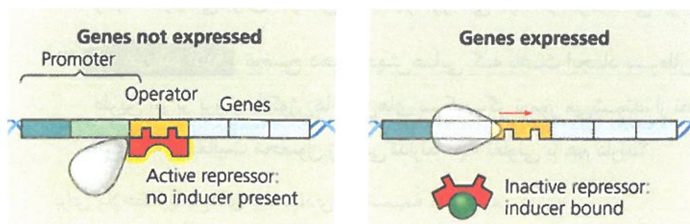
○ سلول‌ها متابولیسم را از طریق تنظیم فعالیت آنزیم‌ها یا بیان ژن‌هایی که این آنزیم‌ها را رمز می‌کنند، کنترل می‌نمایند. در باکتری‌ها، ژن‌ها اغلب درون یک **اپران** جمع می‌شوند که دارای یک راه‌انداز برای چندین ژن مجاور می‌باشد. یک **اپراتور** برروی DNA اپران را خاموش یا روشن می‌کند و باعث تنظیم هماهنگ ژن‌ها می‌شود.



○ اپران‌های القا شونده و مهارشونده، هر دو مثال‌هایی از تنظیم منفی ژن هستند. در هر دو نوع اپران، اتصال یک **مهارکنندهٔ** اختصاصی به اپراتور، رونویسی را خاموش می‌کند (مهارکننده با یک ژن **تنظیم‌کنندهٔ** جداگانه رمز می‌شود). در یک اپران قابل مهار، مهارکننده وقتی فعال می‌شود که به یک **کمک‌مهارکننده** متصل شود. این کمک‌مهارکننده معمولاً محصول نهایی یک مسیر آنابولیک است.



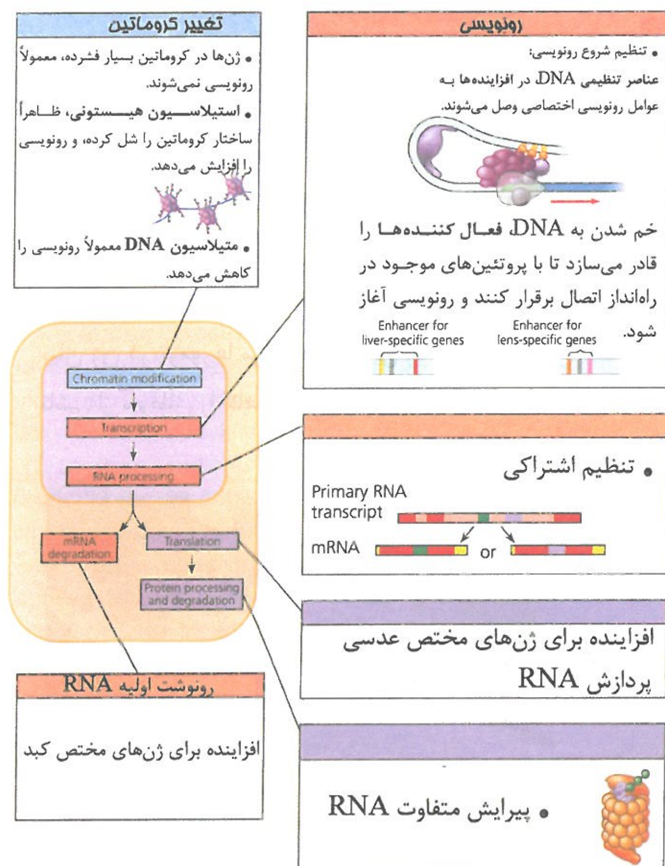
در یک اپران قابل القا، اتصال **القاکننده** به یک مهارکنندهٔ فعال، آن را غیرفعال می‌کند و بنابراین رونویسی روشن می‌شود. آنزیم‌های قابل القا معمولاً در مسیرهای کاتابولیک عمل می‌کنند.



○ بعضی از اپران‌ها از طریق یک پروتئین **فعال‌کنندهٔ** تحریکی، مانند پروتئین فعال‌کنندهٔ کاتابولیت (CAP) دچار تنظیم مثبت می‌شوند. این پروتئین‌ها وقتی به محلی از راه‌انداز متصل می‌شوند، رونویسی را راه‌اندازی می‌کنند.

؟ نقش کمک‌مهار کننده و القا کننده در تنظیم منفی یک اپران را با هم مقایسه کنید

۲-۱۸ بیان ژن‌های یوکاریوتی در مراحل متعددی قابل تنظیم است



ترجمه

• شروع ترجمه از طریق تنظیم عوامل آغازگر، می‌تواند کنترل شود.

تجزیهٔ mRNA

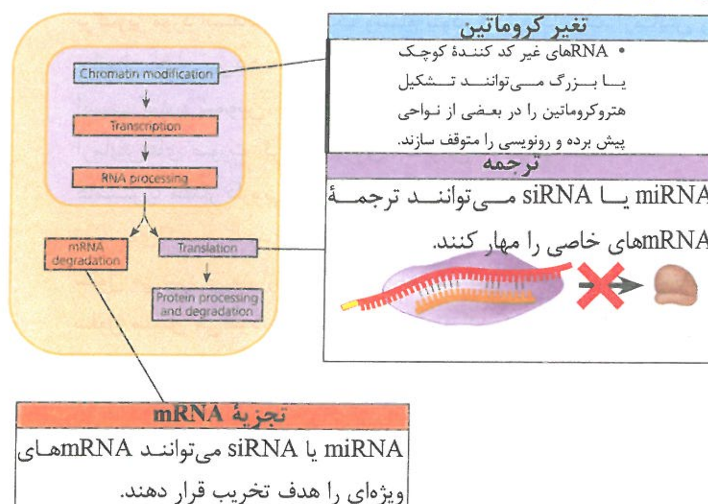
• هر mRNA دارای طول عمر مشخص است، که تا حدی توسط توالی‌های ۵′ و ۳′ UTR تعیین می‌شود.

تجزیه و پردازش پروتئین

فرایندهای تجزیه و پردازش پروتئین توسط **پروتئازوم‌ها**، تنظیم می‌شوند

؟ توضیح دهید چه اتفاقی بایستی رخ دهد تا یک ژن مختص یک نوع سلول در آن نوع سلول، رونویسی شود.

۱۸-۳ RNAهای غیر کدکننده، نقش‌های متعددی در تنظیم بیان ژن دارند



؟ چرا miRNAها، RNAهای غیر کد کننده نامیده می‌شوند؟ توضیح دهید miRNAها چگونه در تنظیم ژن شرکت می‌کنند.

۱۸-٤ برنامه‌ای که موجب بیان متفاوت ژن‌ها می‌شود باعث به‌وجود آمدن انواع مختلف سلول‌ها در یک موجود پرسلولی می‌گردد

○ سلول‌های جنین **تمایز** پیدا می‌کنند و از نظر ساختار و عملکرد اختصاصی می‌شوند. **ریخت‌زایی** فرایندی است که به موجود زنده شکل و قسمت‌های مختلف بدنش را می‌بخشد. سلول‌ها از نظر عملکرد و ساختار با هم متفاوتند، نه به این دلیل که ژن‌های متفاوتی دارند بلکه به این دلیل که قسمت‌های مختلفی از یک ژنوم یکسان را بیان می‌کنند.

○ **عوامل تعیین‌کنندهٔ سیتوپلاسمی** در تخم غیربارور، بیان ژن‌ها را در زیگوت تنظیم می‌کنند و سرنوشت تکوینی سلول‌های جنینی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در فرایندی به نام **القا**، مولکول‌های پیام‌رسان از سلول‌های جنینی باعث تغییرات رونویسی در سلول‌های هدف مجاور می‌شوند.

○ تمایز با ظهور پروتئین‌های اختصاصی بافتی شروع می‌شود که به سلول‌های تمایزیافته امکان می‌دهند تا عملکرد اختصاصی‌شان را انجام دهند.

○ در جانوران، **قالب‌بندی** (تکوین سه‌بعدی بافت‌ها و اعضای بدن) در جنین ابتدایی شروع می‌شود. **اطلاعات موقعیتی** (همان راهنماهای مولکولی که قالب‌بندی را کنترل می‌کنند)، مکان هر سلول را نسبت به محورهای بدن و سلول‌های دیگر می‌گویند. در دروزوفیلا، اختلاف غلظت مواد **ریخت‌زا** که با **ژن‌های اثرگذار مادری** رمز می‌شوند، محورهای بدن را تعیین می‌کنند. برای مثال، شیب غلظت پروتئین **بی‌کوئید** محور جلویی - عقبی را تعیین می‌کند.

؟ دو فرایند اصلی را توضیح دهید که باعث می‌شوند سلول‌های جنینی وارد مسیرهای مختلفی شده و به سمت سرنوشت نهایی‌شان به‌پیش روند.

۱۸-۵ سرطان از تغییرات سلولی که کنترل چرخهٔ سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ناشی می‌شود

○ محصولات **پروتو - انکوژن‌ها** و **ژن‌های سرکوب‌گر تومور**، تقسیم سلولی را کنترل می‌کنند. یک تغییر ژنتیکی که یک پروتو- انکوژن را بسیار فعال کند، در واقع آن را به یک **انکوژن** تبدیل می‌کند که ممکن است باعث بیشتر تقسیم شدن سلول و ایجاد سرطان شود. یک ژن سرکوب‌گر تومور پروتئینی را رمز می‌کند که تقسیم غیرطبیعی سلول را مهار می‌نماید. یک جهش در چنین ژنی که عملکرد پروتئین حاصل از آن را کاهش دهد نیز ممکن است باعث افزایش تقسیم سلولی و احتمالاً سرطان شود.

○ بسیاری از پروتو - انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور، به‌ترتیب اجزای مسیرهای پیام‌رسانی تحریک و مهار رشد را رمز می‌کنند. یک نسخهٔ فعال از یک پروتئین در یک مسیر تحریکی مانند **Ras** (یک G پروتئین) به‌عنوان یک پروتئین انکوژن عمل می‌کند. یک نسخهٔ معیوب از یک پروتئین در یک مسیر مهاری مانند **p۵۳** (یک فعال‌کنندهٔ رونویسی) از عملکرد خود به‌عنوان مهارگر تومور باز می‌ماند.

○ در مدل چندمرحله‌ای ایجاد سرطان، سلول‌های طبیعی با تجمع جهش‌هایی که پروتو - انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور را تحت تأثیر قرار می‌دهند، به سلول‌های سرطانی تبدیل می‌شوند.

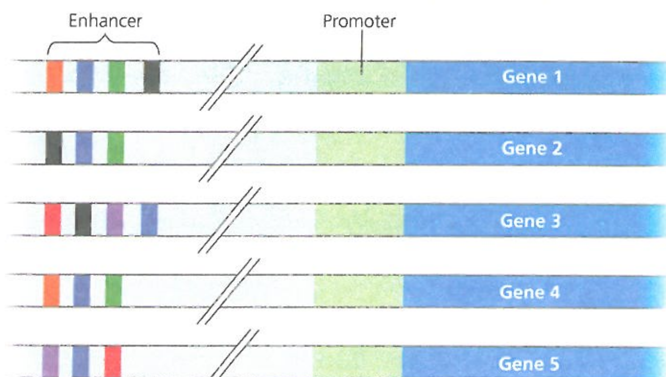
○ افرادی که یک انکوژن یا یک الل سرکوب‌گر تومور جهش‌یافته به ارث می‌برند، استعداد بیشتری برای ابتلا به سرطان دارند. بعضی ویروس‌های خاص با وارد کردن DNA خود به ژنوم سلول، سرطان ایجاد می‌کنند.

؟ عملکردهای معمول پروتئین‌های رمز شده توسط پروتوانکوژن‌ها را با عملکردهای پروتئین‌های رمز شده توسط ژن‌های سرکوب‌گر تومور مقایسه کنید.

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چند گزینه‌ای ۱ تا ۱۰ پاسخ دهید.*

۱۱- **رسم کنید** شکل زیر پنج ژن و افزاینده‌هایشان را در ژنوم یک گونهٔ خاص نشان می‌دهد. فرض کنید پروتئین‌های فعال‌کنندهٔ نارنجی، آبی، سبز، سیاه، قرمز و بنفشی وجود دارند که به‌مناطق تنظیمی همرنگ، موجود در افزایندهٔ این ژن‌ها متصل می‌شوند.



الف) در سلولی فقط ژن پنجم رونویسی می‌شود. یک X در بالای قطعات افزایندهٔ تمام ژن‌هایی بگذارید که ممکن است در این سلول به فعال کننده‌ها متصل شوند. چه رنگ‌هایی از فعال‌کننده‌ها وجود خواهند داشت؟
ب) در سلولی فعال‌کننده‌های سبز، آبی و نارنجی وجود دارند. یک نقطه در بالای قطعات افزاینده‌ای بگذارید که در این سلول به فعال‌کننده‌ها متصل می‌شوند. چه ژن یا ژن‌هایی رونویسی خواهند شد؟
ج) فرض کنید ژن‌های ۱، ۲ و ۴ پروتئین‌های اختصاصی عصب و ژن‌های ۳ و ۵ پروتئین‌های اختصاصی پوست را رمز می‌کنند. در هر نوع سلول چه فعال‌کننده‌هایی باید موجود باشد تا رونویسی از ژن‌های مناسب تضمین شود؟

۱۲- ارتباط تکاملی

توالی‌های DNA می‌توانند مسیر تکامل را در خود حفظ کنند (فصل ۵ را ببینید). دانشمندانی که توالی ژنوم انسانی را آنالیز می‌کردند، مناطقی را در ژنوم انسان یافتند که به شدت حفاظت‌شده بوده (یعنی شبیه به مناطق مشابه در گونه‌های دیگر بود) و مسئول رمز کردن پروتئین نبودند. یک توضیح محتمل برای این یافته ارائه کنید.

۱۳- تحقیق علمی

سلول‌های پروستات معمولاً برای زنده ماندن به تستوسترون و آندروژن‌های دیگر نیاز دارند. ولی بعضی از سرطان‌های پروستات علی‌رغم درمان‌های مربوط به حذف آندروژن‌ها، زنده باقی می‌مانند. یک فرضیه این است که استروژن که اغلب یک هورمون زنانه به‌حساب می‌آید، ممکن است در این سلول‌های سرطانی ژن‌هایی را فعال کند که به‌صورت معمول با آندروژن فعال می‌شدند. یک یا چند آزمایش برای آزمون این فرضیه توصیف کنید. (شکل ۹- ۱۱ را برای مرور کردن عملکرد هورمون‌های استروئیدی ببینید.)

۱۴- علم، فناوری و جامعه

مقادیر ناچیزی از دی‌اکسین در «مادهٔ نارنجی[1]» که یک ترکیب برگ‌ریز مورد استفاده در جنگ ویتنام بود، وجود داشت. آزمایش روی جانوران نشان می‌دهد که دی‌اکسین می‌تواند نقایص هنگام تولد، سرطان، آسیب کبد و تیموس، مهار سیستم ایمنی و گاهی مرگ ایجاد کند. ولی آزمایش‌های صورت گرفته برروی جانوران دو پهلو هستند. مثلاً یک هامستر با مقدار دارویی که برای یک خوکچه هندی کشنده است، آسیبی ندید. دی‌اکسین تاحدی شبیه یک هورمون استروئیدی عمل می‌کند. وارد سلول می‌شود و بعد از متصل شدن به یک گیرندهٔ پروتئینی، به DNA سلول متصل می‌شود. این مکانیسم چگونه کمک می‌کند تا تنوع اثر دی‌اکسین روی سیستم‌های بدنی مختلف و جانوران مختلف را توضیح دهیم؟ چگونه ممکن است تعیین کنیم که یک نوع بیماری با تماس دی‌اکسین ارتباط دارد؟ شما چگونه تشخیص می‌دهید که یک فرد خاص در اثر تماس با دی‌اکسین بیمار شده است؟ کدام‌یک سخت‌تر نشان داده می‌شود؟ چرا؟

۱۵- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

خود تنظیمی در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت)، بحث کنید که فرایند نشان داده شده در شکل b و a ۲۴-۱۸، چگونه مثال‌هایی از فرایندهای خود تنظیمی موجودات زنده هستند.

1- Agent Orange

19

ویروس‌ها



◀ شکل ۱- ۱۹ آیا ویروس‌های کوچکی که در حال آلوده کردن این *E. coli* هستند، زنده‌اند؟

مفاهیم کلیدی

۱۹-۱ هر ویروس از یک نوکلئیک اسید تشکیل می‌شود که توسط یک پوشش پروتئینی احاطه شده است

۱۹-۲ ویروس‌ها فقط در سلول‌های میزبان تولیدمثل می‌کنند

۱۹-۳ ویروس‌ها، ویروئیدها و پریون‌ها بیماری‌زاهای خطرناکی برای جانوران و گیاهان هستند

نگاه کلی

زندگی عاریه‌ای

شکل ۱-۱۹ یک واقعهٔ جالب را نشان می‌دهد. حملهٔ تعداد زیادی ساختمان مشابه آب‌نبات چوبی‌های کوچک به یک سلول باکتریایی. این ساختمان‌ها نوعی ویروس به‌نام باکتریوفاژ T_4 هستند که در حال آلوده کردن باکتری ***E. Coli*** در این تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره می‌باشند. ویروس با تزریق DNAی خود به داخل سلول، کنترل ژنتیکی باکتری را به دست گرفته و تشکیلات سلولی را وادار به تولید تعداد زیادی ویروس جدید می‌کند.

همان‌طور که به یاد دارید، باکتری‌ها و دیگر پروکاریوت‌ها، سلول‌هایی بسیار کوچک‌تر و ساده‌تر از سلول‌های یوکاریوتی مانند گیاهان و جانوران دارند. ویروس‌ها حتی از این هم کوچک‌تر و ساده‌ترند. ***ویروس‌ها*** فاقد ساختارها و تشکیلات متابولیکی هستند که در سلول‌ها دیده می‌شوند و بیشتر آنها کمی پیچیده‌تر از ژن‌های بسته‌بندی شده داخل یک پوشش پروتئینی می‌باشند.

ویروس‌ها زنده‌اند یا خیر؟ قبلاً آنها را مواد شیمیایی بیولوژیک فرض می‌کردند. در واقع کلمهٔ لاتین ویروس به معنی «سم» است. از آنجایی‌که ویروس‌ها قادر به ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها هستند و می‌توانند بین موجودات زنده گسترش یابند، محققان در اواخر دههٔ ۱۸۰۰ آنها را ساده‌ترین شکل‌های حیات در نظر گرفتند. به هر حال ویروس‌ها نمی‌توانند در خارج از سلول میزبان تولید مثل کنند یا فعالیت‌های متابولیک انجام دهند. امروزه بیشتر زیست‌شناسانی که ویروس‌ها را مطالعه می‌کنند در این مسأله توافق دارند که آنها زنده نیستند ولی در جایگاه نامعلومی بین اشکال زنده و مواد شیمیایی قرار می‌گیرند. یک اصطلاح ساده که اخیراً توسط دو محقق به‌کار رفته‌اند آنها را به خوبی توصیف می‌کند: ویروس‌ها دارای «نوعی زندگی عاریه‌ای» هستند.

به طور قابل توجهی، زیست‌شناسی مولکولی در آزمایشگاه‌هایی که در آنها زیست‌شناسان، ویروس‌های آلوده‌کنندهٔ باکتری‌ها را مطالعه می‌کردند، متولد شد. آزمایش‌هایی که روی ویروس‌ها انجام می‌گرفت، شواهد مهمی به نفع این مسأله ارائه داد که ژن‌ها از نوکلئیک اسید تشکیل شده و برای شناخت مکانیسم‌های مولکولی فرایندهای اساسی مربوط به همانندسازی DNA، رونویسی و ترجمه، با اهمیت هستند.

علاوه بر ارزش آنها به‌عنوان ابزار آزمایشگاهی، ویروس‌ها مکانیسم‌های ژنتیکی بی‌همتایی دارند که به ما کمک می‌کنند تا چگونگی بیماری‌زایی آنها را دریابیم. به علاوه، مطالعهٔ ویروس‌ها باعث ایجاد تکنیک‌های جدیدی شده است که با استفاده از آنها دانشمندان قادرند ژن‌ها را دست‌کاری کنند و آنها را از یک موجود زنده به دیگری انتقال دهند. این روش‌ها نقش مهمی در تحقیقات پایه، فن‌آوری زیستی و کاربردهای پزشکی دارند. برای مثال، ویروس‌ها به‌عنوان عامل انتقال ژن در ژن‌درمانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (فصل ۲۰ را ببینید).

در این فصل، ما به زیست‌شناسی ویروس‌ها می‌پردازیم. ابتدا از ساختار این سیستم‌های ژنتیکی ساده آغاز می‌کنیم و سپس چرخهٔ تولیدمثلی آنها را توضیح خواهیم داد. در قسمت بعد در مورد نقش ویروس‌ها به‌عنوان عوامل بیماری‌زا یا پاتوژن‌ها بحث خواهیم کرد و در آخر به عوامل عفونی به مراتب ساده‌تر یعنی ویروئیدها و پریون‌ها خواهیم پرداخت.

۱-۱۹ هر ویروس از یک نوکلئیک اسید تشکیل می‌شود که توسط یک پوشش پروتئینی احاطه شده است

دانشمندان خیلی قبل از اینکه بتوانند ویروس‌ها را به واقع ببینند به‌وجود آنها به‌صورت غیر مستقیم پی‌برده بودند. داستان چگونگی کشف ویروس‌ها تقریباً از اواخر قرن ۱۹ آغاز شد.

کشف ویروس‌ها: تحقیق علمی

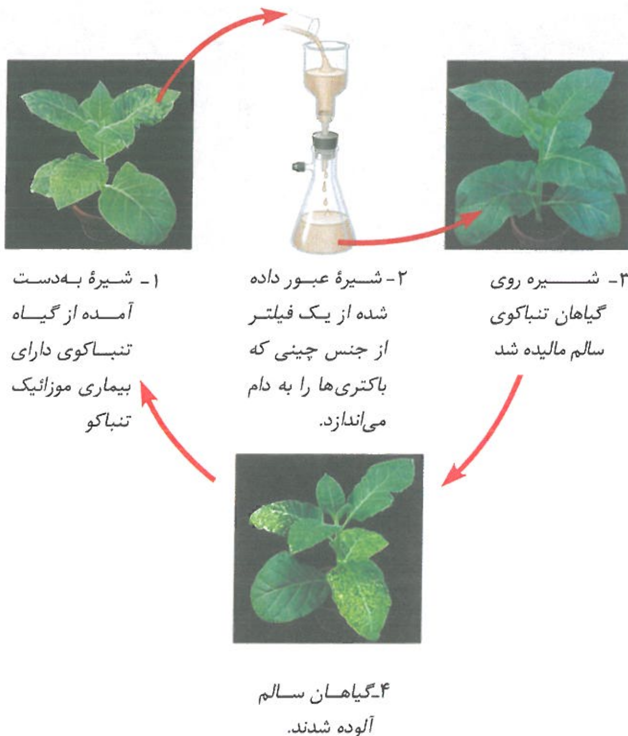
بیماری موزائیک تنباکو باعث کوتاهی قامت گیاهان تنباکو می‌شود و به برگ‌های آن یک رنگ لکه‌لکه یا موزائیک می‌دهد. در سال ۱۸۸۳، آدولف میر[1]، دانشمند آلمانی، دریافت که می‌توان بیماری را از یک گیاه به گیاه دیگر با مالیدن شیرهٔ به‌دست آمده از برگ‌های بیمار به برگ‌های سالم، منتقل کرد. بعد از جستجوی ناموفق برای یافتن یک میکروب عفونی در شیرهٔ گیاه، میر پیشنهاد کرد که بیماری توسط یک باکتری نامعمول کوچک که در زیر میکروسکوپ دیده نمی‌شود، ایجاد شده است. این فرضیه یک دهه بعد توسط دیمتری ایوانوسکی[2]، دانشمند روسی مورد آزمایش قرار گرفت. او شیرهٔ برگ‌های آلودهٔ تنباکو را از فیلتری که برای جدا کردن باکتری‌ها طراحی شده بود، عبور داد. ولی این شیره هنوز قادر به ایجاد بیماری موزائیک بود.

ولی ایوانوسکی همچنان به این فرضیه که باکتری‌ها عامل بیماری موزائیک بودند پایبند ماند. احتمالاً او این‌طور استدلال کرده بود که باکتری‌ها آنقدر کوچک بودند که می‌توانستند از فیلتر عبور کنند یا اینکه ترکیبی ترشح کرده بودند که عامل بیماری بود. فرضیهٔ ترشح توکسین (سم) زمانی رد شد که یک گیاه‌شناس هلندی به‌نام مارتینوس بیجرینک[3] مجموعه‌ای آزمایش‌ها انجام داد که نشان می‌داد عامل عفونی موجود در شیرهٔ فیلترشده قادر به تولیدمثل است (**شکل ۲-۱۹**).

شکل ۲-۱۹ تحقیق

چه چیزی بیماری موزائیک تنباکو را ایجاد می‌کند؟

آزمایش در اواخر دههٔ ۱۸۰۰، مارتینوس بیجرینک، عضو مدرسهٔ فنی Delft در هلند، خصوصیات عاملی که بیماری موزائیک تنباکو را ایجاد می‌کرد (که بعداً بیماری لکه نامیده شد) را مورد بررسی قرار داد.



نتایج: وقتی شیرهٔ فیلترشده روی برگ‌های سالم مالیده می‌شد آنها نیز آلوده می‌شدند، شیرهٔ آنها نیز وقتی استخراج و فیلتر می‌شد می‌توانست به‌عنوان منبع عفونت برای گروه دیگری از گیاهان عمل کند. هرگروه از گیاهان بیماری را به همان شدت گروه قبلی بروز می‌داد.

نتیجه‌گیری: عامل عفونی قطعاً باکتری نبود، زیرا می‌توانست از یک فیلتر باکتری عبور کند. عامل پاتوژن باید در گیاهان قادر به تولیدمثل بوده باشد، زیرا توانایی‌اش برای ایجاد بیماری بعد از چندین بار انتقال از یک گیاه به گیاه دیگر کاهش نیافته بود.

چه می‌شد اگر؟ اگر بیجرینک مشاهده می‌کرد که عفونت بعد از هر بار انتقال در هر گروه از گروه قبلی ضعیف‌تر است و سرانجام دیگر شیرهٔ منتقل شده قادر به تولید بیماری نیست، چه نتیجه‌ای می‌گرفت؟

در حقیقت، این پاتوژن فقط در میزبانی که آلوده کرده بود، تولیدمثل می‌کرد. در آزمایش‌های بعدی، بیجرینک نشان داد که برخلاف باکتری‌ها، عامل مرموز بیماری موزائیک، قابل کشت‌دادن در محیط‌های مغذی لوله‌های آزمایش یا ظرف‌های پتری نبود. بنابراین او ذره‌ای بسیار کوچک‌تر و ساده‌تر از باکتری را به‌عنوان عامل بیماری در نظر گرفت. در حقیقت، او اولین دانشمندی است که مفهوم ویروس را بیان کرد. تردیدهای او در سال ۱۹۳۵ توسط

1- Adolf Mayer
2- Dimitri Ivanowsky
3- Martinus Beijerinck

دانشمند آمریکایی، وندل استنلی[1] که این ذرهٔ عفونی را متبلور کرد، مورد تأیید قرار گرفت. این ویروس امروزه ویروس موزائیک تنباکو (TMV) نامیده می‌شود. سپس TMV و دیگر ویروس‌ها به واقع توسط میکروسکوپ الکترونی دیده شدند.

ساختار ویروس‌ها

کوچک‌ترین ویروس‌ها فقط ۲۰nm قطر دارند، یعنی حتی کوچک‌تر از یک ریبوزوم. میلیون‌ها ویروس به آسانی در نوک یک سوزن جای می‌گیرند، حتی بزرگ‌ترین ویروس شناخته‌شده که قطری برابر با چند صد نانومتر دارد، به سختی زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است. کشف استنلی که بعضی ویروس‌ها را می‌توان به‌صورت بلور درآورد، خبر جالب و جدیدی بود. چون حتی ساده‌ترین سلول‌ها هم نمی‌توانند به شکل بلورهای معمول با هم تجمع کنند. بنابراین اگر ویروس‌ها سلول نیستند پس چه چیزی هستند؟ بررسی ساختار ویروس‌ها با جزئیات بیشتر نشان می‌دهد که آنها ذراتی عفونی می‌باشند که از یک نوکلئیک اسید پوشیده با یک پوشش پروتئینی تشکیل شده‌اند که در بعضی موارد دارای یک روکش غشایی هم هستند.

ژنوم‌های ویروسی

ما معمولاً ژن‌ها را به‌صورت DNAی دورشته‌ای یا همان مارپیچ دورشته‌ای معمول تصور می‌کنیم، ولی بعضی از ویروس‌ها از این اصل تبعیت نمی‌کنند. ژنوم آنها ممکن است از DNAی دو رشته‌ای، DNAی تک‌رشته‌ای، RNAی دورشته‌ای یا RNAی تک‌رشته‌ای، بسته به نوع ویروس تشکیل شده باشد. هر ویروس با توجه به نوع نوکلئیک اسیدی که ژنوم آن‌را می‌سازد، DNAی ویروس یا RNAی ویروس نامیده می‌شود. در هر دو مورد، ژنوم معمولاً به‌صورت یک مولکول خطی یا حلقوی آرایش می‌یابد. با این‌حال ژنوم بعضی از ویروس‌ها از چندین مولکول نوکلئیک اسید تشکیل می‌شود. کوچک‌ترین ویروس‌های شناخته شده فقط چهار ژن در ژنوم خود دارند در حالی‌که بزرگ‌ترین ویروس‌ها چند صد یا هزار ژن را دارا هستند. برای مقایسه، ژنوم باکتریایی حاوی ۲۰۰ تا چند هزار ژن می‌تواند باشد.

کپسیدها و پوشش‌ها

پوستهٔ پروتئینی که ژنوم ویروس‌ها را در خود جای می‌دهد **کپسید**[2] نامیده می‌شود. بسته به نوع ویروس، کپسید ممکن است

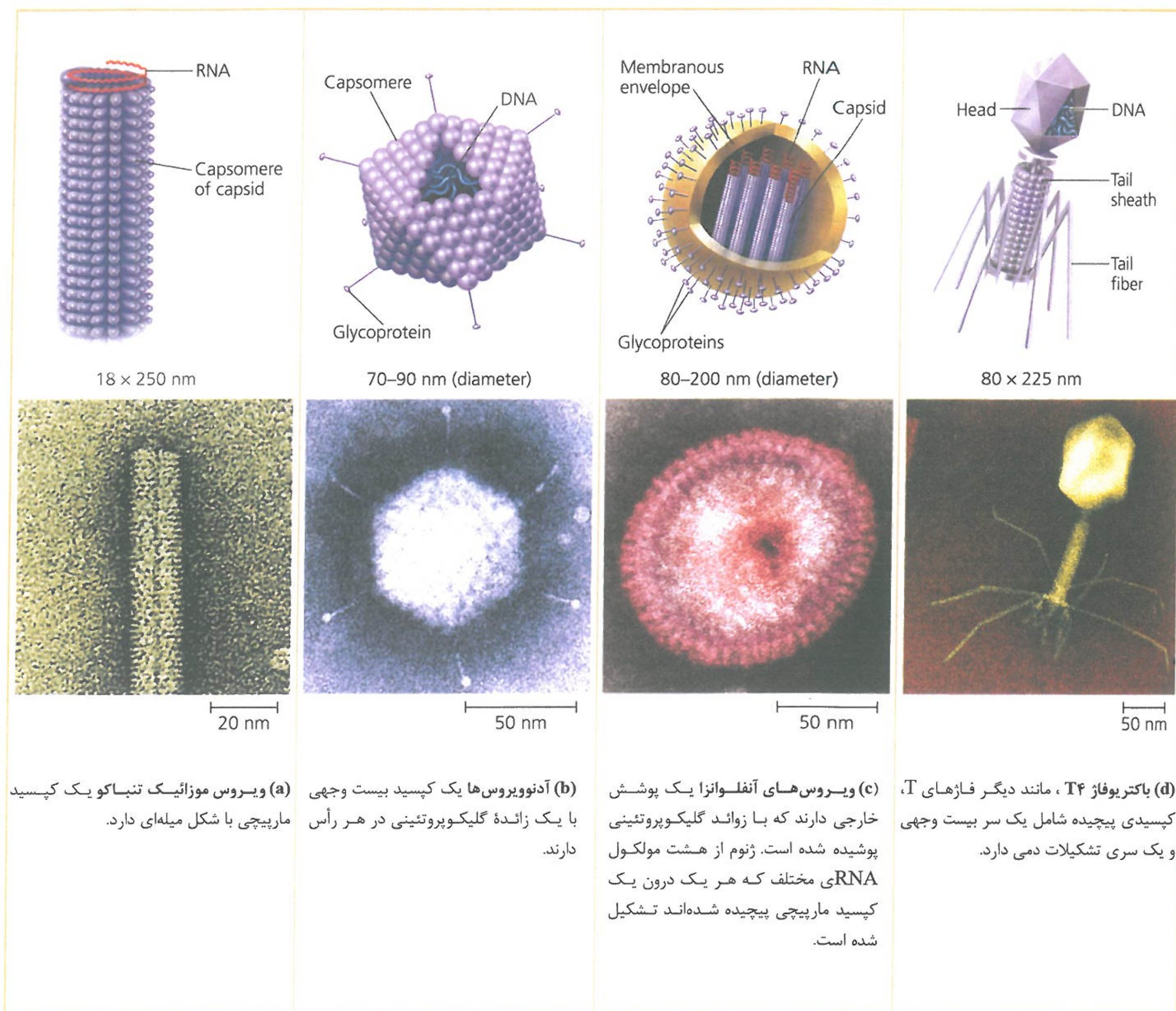
1- Wendell Stanley
2- Capsid

میله‌ای شکل، چند وجهی یا پیچیده‌تر (مانند T_4) باشد. کپسیدها از تعداد زیادی زیرواحد پروتئینی به نام کپسومر[3] ساخته می‌شوند، اما تعداد ***انواع*** مختلف پروتئین‌ها در یک کپسید معمولاً محدود است. ویروس موزائیک تنباکو یک کپسید محکم میله‌ای‌شکل دارد که از بیش از هزار مولکول یک پروتئین واحد که در یک مارپیچ سازماندهی شده‌اند، تشکیل شده است. به همین دلیل ویروس‌های میله‌ای شکل معمولاً ویروس‌های مارپیچی[4] نامیده می‌شوند (**شکل ۳a-۱۹**). آدنوویروس‌ها که مجرای تنفسی حیوانات را آلوده می‌کنند، دارای ۲۵۲ مولکول پروتئینی یکسان هستند که در یک کپسید چند وجهی با ۲۰ وجه مثلثی‌شکل قرار گرفته‌اند. به‌همین دلیل این ویروس‌ها و سایر ویروس‌های مشابه به‌عنوان ***ویروس‌های بیست وجهی***[5] شناخته می‌شوند (**شکل ۳b-۱۹**).

بعضی ویروس‌ها دارای ساختارهای ضمیمه‌ای هستند که به آنها کمک می‌کنند تا میزبان خود را آلوده کنند، مثل پوشش غشایی که کپسید ویروس آنفلوانزا و بسیاری از ویروس‌های دیگر موجود در جانوران را می‌پوشاند (**شکل ۳c-۱۹**). این ***پوشش‌های ویروسی***[6]، که از غشای سلول‌های میزبان به‌دست می‌آیند، حاوی فسفولیپیدها و پروتئین‌های غشایی سلول میزبان هستند. آنها دارای پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌های با منشأ ویروس نیز می‌باشند. (گلیکوپروتئین‌ها، پروتئین‌هایی هستند که با پیوند کووالانسی به کربوهیدرات‌ها متصل شده‌اند.) بعضی ویروس‌ها چند مولکول آنزیم ویروسی را در کپسید خود حمل می‌کنند.

بسیاری از پیچیده‌ترین کپسیدها در ویروس‌های آلوده کنندهٔ باکتری‌ها دیده می‌شوند. این ویروس‌ها ***باکتریوفاژ***[7] یا ***فاژ***[8] نامیده می‌شوند. اولین فاژهایی که مطالعه شدند شامل هفت فاژی هستند که *E. coli* را آلوده می‌کنند. این هفت فاژ، نوع ۱ (T_1)، نوع ۲ (T_2)، و به همین شکل براساس ترتیب کشفشان نامیده شدند. فاژهای T_2، T_4 و T_6 از نظر ساختار بسیار به‌هم شبیه‌اند. کپسید آنها سر بیست‌وجهی طویلی دارد که DNAی آنها را می‌پوشاند. یک دم پروتئینی به سر متصل است که فیبرهایی به آن وصل هستند و فاژ به‌وسیلهٔ این فیبرها به باکتری می‌چسبد (**شکل ۳d-۱۹**). در قسمت بعدی خواهیم دید که چگونه این چند قسمت ویروسی با اجزای سلولی تعامل می‌کنند تا تعداد زیادی ویروس جدید بسازند.

3- Capsomere
4- Helical viruses
5- Icosahedral viruses
6- Viral envelopes
7- Bacteriophage
8- Phage



(a) ویروس موزائیک تنباکو یک کپسید مارپیچی با شکل میله‌ای دارد.

(b) آدنوویروس‌ها یک کپسید بیست وجهی با یک زائدهٔ گلیکوپروتئینی در هر رأس دارند.

(c) ویروس‌های آنفلوانزا یک پوشش خارجی دارند که با زوائد گلیکوپروتئینی پوشیده شده است. ژنوم از هشت مولکول RNAی مختلف که هر یک درون یک کپسید مارپیچی پیچیده شده‌اند تشکیل شده است.

(d) باکتریوفاژ T۴ ، مانند دیگر فاژهای T، کپسیدی پیچیده شامل یک سر بیست وجهی و یک سری تشکیلات دمی دارد.

◀ **شکل ۳- ۱۹ ساختار ویروسی.** *ویروس‌ها از نوکلئیک اسید (DNA یا RNA) که داخل یک پوشش پروتئینی (کپسید) محصور شده و گاهی یک پوشش غشایی دیگر، تشکیل شده‌اند. هر زیرواحد پروتئینی که کپسید را می‌سازد، کپسومر نامیده می‌شود. ویروس‌ها با وجود تفاوت‌هایی که در اندازه و شکل خود دارند، دارای خصوصیات ساختمانی مشترکی هستند. بیشتر این خصوصیات مشترک در چهار مثالی که در اینجا نمایش داده شده دیده می‌شوند. (ریزنگارها تصاویر TEM رنگی هستند)*

پرسش‌های مبحث ۱–۱۹

۱. ساختار ویروس موزائیک تنباکو (TMV) را با ویروس آنفلوانزا مقایسه کنید (شکل ۳-۱۹ را ببینید).

۲. **ارتباط دهید** در شکل ۴-۱۶، شما آموختید باکتریوفاژها چگونه شاهدی فراهم می‌کردند که DNA حامل اطلاعات ژنتیکی است. مختصراً آزمایش انجام شده توسط هرشی و چیس را شرح دهید. در توضیح خود ذکر کنید که چرا آن پژوهشگران فاژها را انتخاب کردند.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۲-۱۹ ویروس‌ها فقط در سلول‌های میزبان تولیدمثل می‌کنند

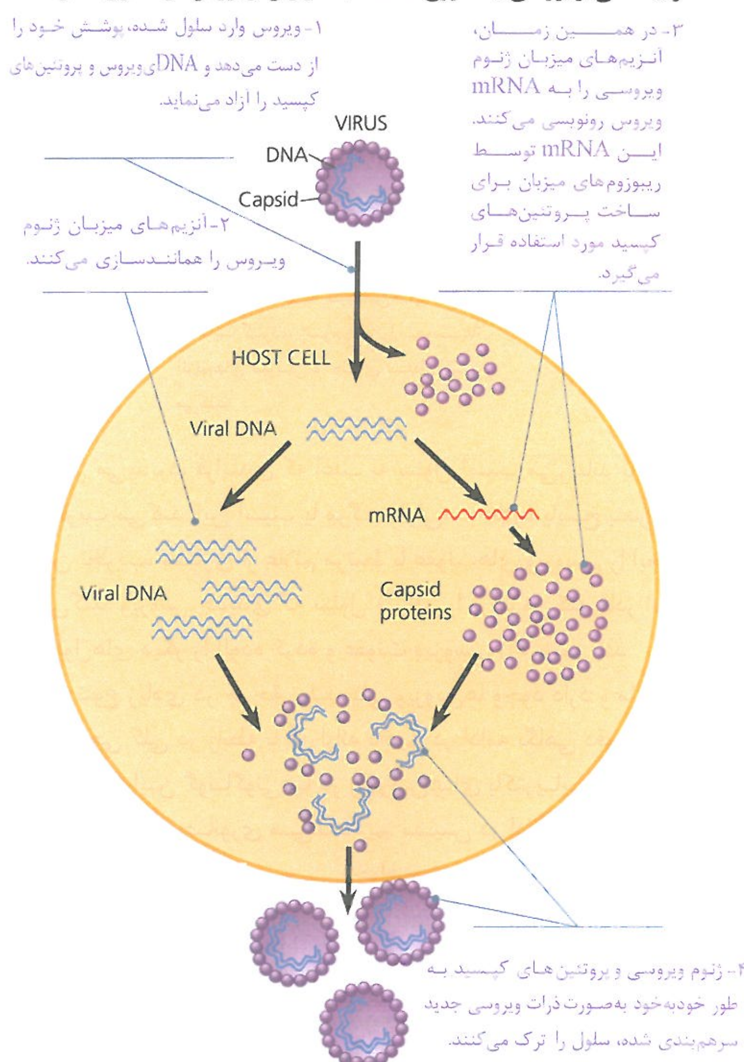
ویروس‌ها فاقد آنزیم‌های متابولیک و تجهیزات لازم برای ساخت پروتئین‌ها، مانند ریبوزوم‌ها هستند. به عبارت دیگر، آنها انگل‌های داخل سلولیِ اجباری می‌باشند یعنی فقط قادرند در سلول میزبان تولیدمثل انجام دهند. منصفانه است که بگوییم ویروس‌ها فقط ژن‌های بسته‌بندی شده‌ای هستند که از یک سلول میزبان به دیگری منتقل می‌شوند.

هر ویروس فقط می‌تواند سلول‌های انواع محدودی از میزبان‌ها را آلوده کند که به آن **طیف میزبانی**[1] ویروس گفته می‌شود. این حد از اختصاصی بودن میزبان‌ها از تکامل سیستم‌های شناسایی ویروس ناشی می‌شود. ویروس‌ها سلول‌های میزبان را از طریق اتصال «قفل و کلید» بین پروتئین‌های سطحی ویروس و مولکول‌های گیرندهٔ خاص در سطح خارجی سلول‌ها، تشخیص می‌دهند. (براساس یک مدل، چنین مولکول‌های گیرنده‌ای در واقع مسئول انجام اعمال سودمند برای سلول بودند، ولی بعداً توسط ویروس‌ها به‌عنوان دروازه‌هایی برای ورود انتخاب شدند). بعضی ویروس‌ها طیف میزبانی وسیعی دارند. برای مثال، ویروس West Nile (نیل غربی) و ویروس انسفالیت اسبی ویروس‌های واقعاً متفاوتی هستند که هر کدام قادرند پشه‌ها، پرندگان، اسب‌ها و انسان‌ها را آلوده کنند. سایر ویروس‌ها طیف میزبانی کوچکی دارند و فقط قادرند سلول‌های یک گونه را آلوده نمایند. برای مثال، ویروس سرخک فقط می‌تواند انسان‌ها را آلوده کند. به علاوه، عفونت‌های ویروسیِ یوکاریوت‌های پر سلولی معمولاً محدود به بافت‌های خاص هستند. ویروس سرماخوردگی انسان تنها سلول‌های لولهٔ تنفسی فوقانی را آلوده می‌کند و ویروس ایدز به گیرنده‌هایی متصل می‌شود که فقط روی انواع خاصی از گلبول‌های سفید وجود دارند.

خصوصیات کلی چرخهٔ تولید مثل ویروسی

یک عفونت ویروسی وقتی آغاز می‌شود که ویروس به سلول میزبان متصل شده و ژنوم ویروسی وارد سلول میزبان شود (**شکل ۴-۱۹**). مکانیسم ورود ژنوم، به نوع ویروس و نوع سلول میزبان بستگی دارد. برای مثال، فاژهای نوع T از قسمت دمیِ ظریف خود برای تزریق DNA به درون باکتری استفاده می‌کنند (شکل d۳-۱۹ را ببینید). سایر ویروس‌ها از طریق اندوسیتوز وارد می‌شوند یا در مورد ویروس‌های پوشش‌دار، پوشش ویروس با غشای پلاسمایی سلول میزبان ترکیب می‌گردد. از زمانی‌که ژنوم ویروس وارد می‌شود، پروتئین‌هایی که به‌وسیلهٔ آن رمز می‌شوند می‌توانند کنترل میزبان را به عهده گرفته و آن‌را طوری برنامه‌ریزی کنند که نوکلئیک اسید ویروسی را کپی کند و پروتئین‌های ویروسی را بسازد. میزبان نوکلئوتیدهای مورد نیاز برای ساخت نوکلئیک اسید ویروسی و همچنین آنزیم‌ها، ریبوزوم‌ها، tRNAها، آمینواسیدها، ATP و سایر اجزای لازم برای ساخت پروتئین‌های ویروسی را در اختیارش قرار می‌دهد. بیشتر ویروس‌های DNA، از DNA پلی‌مراز سلول میزبان برای ساخت ژنوم جدیدی با استفاده از الگوی DNAی ویروسی خود کمک می‌گیرند. برعکس، RNA ویروس‌ها، جهت همانندسازی ژنوم خود از پلی‌مرازهای ویروسی برای همانندسازی RNAی خود استفاده می‌نمایند. (سلول‌های غیر عفونی معمولاً هیچ آنزیمی برای انجام این فرایند نمی‌سازند.)

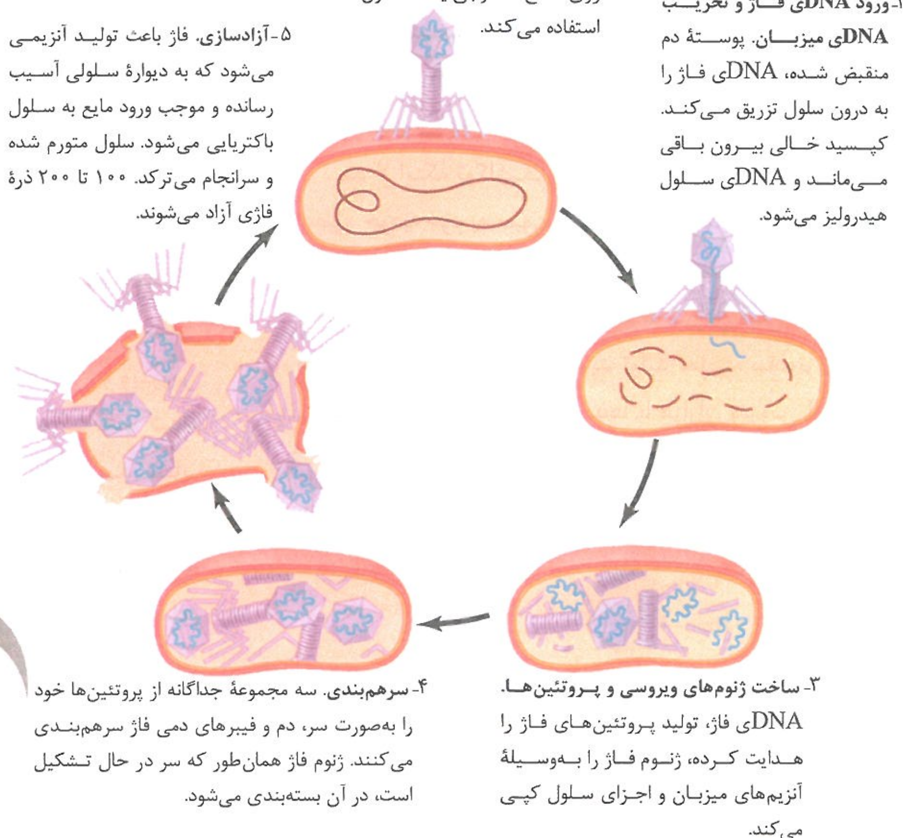
بعد از اینکه نوکلئیک اسید ویروسی و کپسومرها تولید شدند، به‌طور خودبه‌خود به صورت ویروس‌های جدید سرهم‌بندی می‌شوند. در واقع، محققان می‌توانند RNA و کپسومرهای TMV را جدا کنند و سپس به سادگی با مخلوط کردن این اجزا در شرایط مناسب، ویروس‌های کامل جدید تولید نمایند. ساده‌ترین نوع چرخهٔ تولیدمثلی ویروسی با خروج صدها یا هزاران ویروس از سلول آلوده

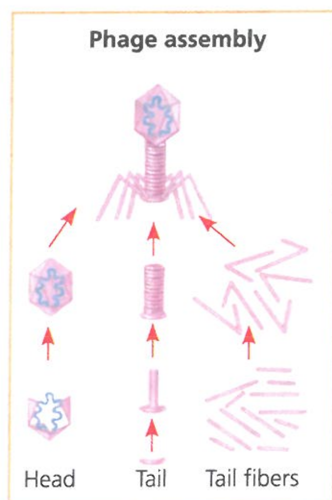


شکل ۴ - ۱۹ یک چرخهٔ تولیدمثل ویروسی ساده‌شده. هر ویروس یک *انگل داخل‌سلولی اجباری است که از تجهیزات و مولکول‌های کوچک میزبان خود برای تولیدمثل استفاده می‌کند. در این چرخهٔ ویروسی ساده، انگل یک DNA دار ویروس است که کپسیدی تشکیل شده از یک نوع پروتئین دارد.*

ارتباط دهید *هر یک از پیکان‌های مستقیم سیاه رنگ را با یک کلمه که نشان‌دهندهٔ فرایند در حال انجام باشد، نام‌گذاری کنید.*

1- Host range





شکل ۵-۱۹ چرخهٔ لیتیک فاژ T۴، یک فاژ حاد. *فاژ T۴ حدود ۳۰۰ ژن دارد که با استفاده از تشکیلات سلولی رونویسی و ترجمه می‌شوند. یکی از اولین ژن‌هایی که بعد از ورود DNAی فاژ به سلول میزبان رونویسی می‌شود، آنزیمی را کد می‌کند که DNAی سلول میزبان را تخریب می‌نماید (مرحلهٔ ۲). DNAی فاژ از تخریب در امان است زیرا نوع تغییر یافته‌ای از سیتوزین دارد که توسط آنزیم قابل شناسایی نیست. تمام چرخهٔ لیتیک، از زمان تماس فاژ با سطح سلول تا لیز شدن سلول، فقط ۳۰ - ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷°C طول می‌کشد.*

پایان می‌پذیرد، فرایندی که اغلب به سلول آسیب می‌رساند یا آن را تخریب می‌کند. این آسیب یا مرگ سلولی، به علاوهٔ پاسخ بدن به این تخریب، بسیاری از علائم مرتبط با عفونت‌های ویروسی را ایجاد می‌کند. ویروس جدیدی که سلول میزبان را ترک می‌کند قادر است سلول‌های دیگر را آلوده کرده و عفونت ویروسی را منتشر کند.

تنوع زیادی در چرخهٔ تولیدمثلی ویروس‌ها وجود دارد و ما تنها توضیحی کلی در رابطه با آن ارائه دادیم. در ادامه نگاهی دقیق‌تر به بعضی از این گوناگونی‌ها در ویروس‌های باکتریایی (فاژها) و ویروس‌های جانوری می‌اندازیم. سپس در ادامهٔ این فصل ویروس‌های گیاهی را هم بررسی خواهیم نمود.

چرخهٔ تولیدمثلی فاژها

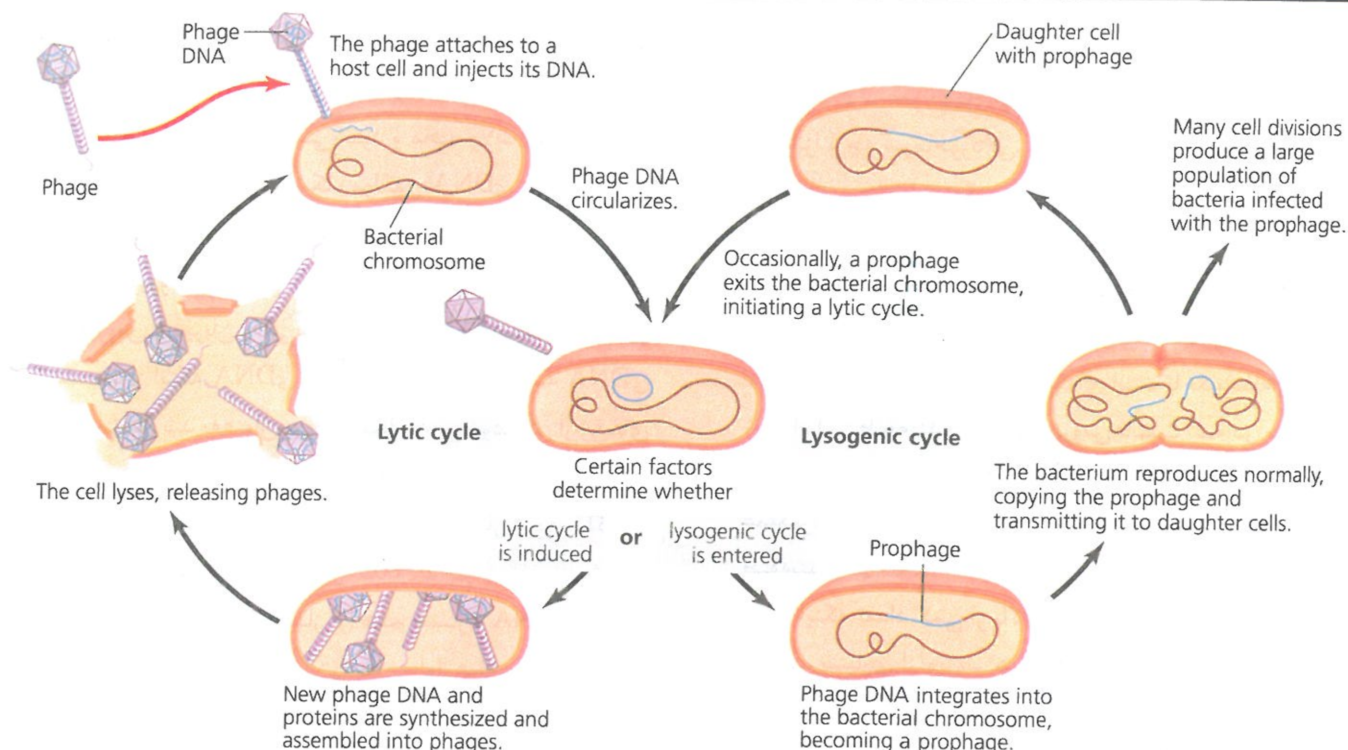
فاژها شناخته‌شده‌ترین ویروس‌ها هستند، با این وجود بعضی از آنها از جملهٔ پیچیده‌ترین ویروس‌ها هم می‌باشند. مطالعات روی فاژها نشان داد که بعضی از ویروس‌های دارای DNAی دورشته‌ای می‌توانند با دو مکانیسم قابل جایگزین تولیدمثل کنند. چرخهٔ لیتیک[1] و چرخهٔ لیزوژنیک[2].

چرخهٔ لیتیک

چرخهٔ تولیدمثلی یک فاژ که به مرگ سلول میزبان می‌انجامد، **چرخهٔ لیتیک** نامیده می‌شود. این اصطلاح به مرحلهٔ عفونت اشاره می‌کند که در آن باکتری لیز می‌شود و فاژهایی را که در آن تولید شده بودند آزاد می‌نماید. هر یک از فاژها می‌توانند یک سلول سالم دیگر را آلوده کنند به‌طوری که چند چرخهٔ لیتیک موفق می‌توانند کل جمعیت باکتریایی را فقط در عرض چند ساعت نابود کند. فاژی که فقط با چرخهٔ لیتیک تولیدمثل می‌نماید یک **فاژ حاد**[3] است. **شکل ۵-۱۹** مراحل اصلی چرخهٔ لیتیک T۴ که یک فاژ مهاجم است را نشان می‌دهد. تصویر و توضیحات آن، این فرایند را توصیف می‌کند و شما باید قبل از ادامهٔ مطلب آن را مطالعه کنید.

بعد از آشنایی با چرخهٔ لیتیک، ممکن است فکر کنید چگونه فاژها تمام باکتری‌ها را از میان نبرده‌اند؟ در واقع، فاژدرمانی در بعضی کشورها برای درمان طبی بعضی عفونت‌های باکتریایی در بیماران به‌کار رفته است. همچنین از محلول‌های حاوی باکتریوفاژها به‌صورت اسپری برای لاشهٔ مرغ‌ها استفاده می‌شود که به‌طور قابل

1- Lytic cycle
2- Lysogenic cycle
3- Virulent phage



شکل ۶-۱۹ چرخه‌های لیتیک و لیزوژنیک فاژ λ، یک فاژ معتدل. *DNAی فاژ λ بعد از ورود به سلول حلقوی شده، می‌تواند فوراً شروع به ساخت تعداد زیادی فاژ جدید کند (چرخهٔ لیتیک)و یا به کروموزوم باکتریایی متصل شود (چرخهٔ لیزوژنیک). در بیشتر موارد، فاژ λ مسیر لیتیک را طی می‌کند که شبیه همان مسیری است که در شکل ۵-۱۹ توضیح داده شد. به هر حال، زمانی که یک چرخهٔ لیزوژنیک آغاز شود، پروفاژ ممکن است در کروموزوم سلول میزبان برای چندین نسل حمل شود. فاژ λ فقط یک رشتهٔ دمی دارد که کوتاه است.*

توجهی عفونت باکتریایی گوشت مرغ را تا رسیدن به بازار فروش کاهش می‌دهد. با این حال باکتری‌ها هم بی‌دفاع نیستند. نخست، انتخاب طبیعی جهش‌هایی را انتخاب می‌کند که در آنها گیرنده‌های باکتریایی توسط انواع خاصی از فاژها قابل شناسایی نباشند. دوم، وقتی DNAی فاژ با موفقیت وارد باکتری می‌شود، اغلب به‌عنوان عامل بیگانه شناسایی شده، توسط آنزیم‌های سلولی به نام ***آنزیم‌های محدود کننده***[1] بریده می‌شود. این آنزیم‌ها توانایی فاژ را برای آلوده کردن باکتری **محدود** می‌کنند و به همین علت با این نام خوانده می‌شوند. DNAی سلول باکتریایی به نحوی متیله می‌شود که از حملهٔ آنزیم‌های محدودکننده درامان باشد. اما همان‌طور که انتخاب طبیعی باکتری‌های با گیرنده‌هایی جهش یافته یا آنزیم‌های محدود کنندهٔ کارآمد را انتخاب می‌کند، فاژهایی را هم ترجیح می‌دهد که بتوانند به گیرنده‌های تغییریافته متصل شوند یا به آنزیم‌های محدود کنندهٔ خاص مقاوم باشند. بنابراین رابطهٔ میزبان – انگل همیشه در حال تکامل است.

دلیل سومی که باکتری‌ها در اثر فعالیت فاژها منقرض نشده‌اند همزیستی فاژها با باکتری در فرایندی به نام لیزوژنی است که اکنون در مورد آن بحث می‌کنیم.

چرخهٔ لیزوژنیک

برخلاف چرخهٔ لیتیک که سلول میزان را از میان می‌برد ***چرخهٔ لیزوژنیک*** اجازهٔ همانندسازی ژنوم فاژ را بدون نابود کردن میزبان می‌دهد. فاژهایی که قادرند با هر دو نوع چرخه داخل یک باکتری همانندسازی کنند، ***فاژهای معتدل***[2] نامیده می‌شوند. یک فاژ معتدل به نام لاندا که با حرف یونانی λ نشان داده می‌شود به‌طور گسترده‌ای در تحقیقات زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فاژ λ شبیه T_4 است ولی دم آن فقط یک فیبر کوتاه دارد.

عفونت یک سلول *E. coli* با فاژ λ وقتی آغاز می‌شود که فاژ به سطح سلول متصل شده، DNAی خطی خود را به درون سلول تزریق می‌کند (**شکل ۶-۱۹**). مولکول DNAی فاژ λ درون میزبان شکل حلقوی پیدا می‌کند. اتفاقی که در مرحلهٔ بعدی می‌افتد بستگی به نوع همانندسازی در آن زمان دارد: چرخهٔ لیتیک یا

1- Restriction enzymes

2- Temperate

چرخهٔ لیزوژنیک. در چرخهٔ لیتیک، ژن‌های ویروسی به سرعت سلول میزبان را تبدیل به یک کارخانهٔ تولید کنندهٔ λ می‌کنند. بنابراین سلول به زودی لیز می‌شود و محصولات ویروسی آزاد می‌شوند. در طول چرخهٔ لیزوژنیک، مولکول DNAی فاژ λ به محل مشخصی از کروموزوم *E. coli* متصل می‌شود. این عمل توسط پروتئین‌های ویروسی خاصی انجام می‌پذیرد که هر دو DNA حلقوی ویروس و میزبان را می‌شکنند و آنها را به یکدیگر متصل می‌کنند. بعد از اینکه DNAی ویروس به این شکل به DNAی باکتریایی متصل شد به‌عنوان **پروفاژ**[1] شناخته می‌شود. یکی از ژن‌های پروفاژ پروتئینی را رمز می‌کند که از رونویسی اکثر ژن‌های دیگر پروفاژ جلوگیری به‌عمل می‌آورد. بنابراین ژنوم فاژ درون باکتری خاموش باقی می‌ماند. هربار که سلول *E. coli* برای تقسیم شدن آماده می‌شود، DNAی فاژ را هم همراه DNAی خود همانندسازی کرده و کپی‌های آن‌را به سلول‌های دختر انتقال می‌دهد. یک سلول آلودهٔ واحد می‌تواند به سرعت جمعیت بزرگی از باکتری‌های حامل ویروس به شکل پروفاژ را ایجاد کند. این مکانیسم ویروس را قادر می‌سازد تا بدون کشتن سلول‌های میزبانی که خود به آن وابسته است، منتشر شود.

اصطلاح لیزوژنیک به این اشاره دارد که پروفاژها قادرند فاژهای فعالی تولید کنند که بتوانند سلول‌های میزبان‌شان را لیز نمایند. این اتفاق زمانی می‌افتد که ژنوم λ تحریک به خروج از کروموزوم باکتریایی شده، یک چرخهٔ لیتیک را آغاز می‌کند. معمولاً یک پیام محیطی، مانند مواد شیمیایی خاص یا تابش اشعه با انرژی زیاد، باعث تبدیل چرخهٔ لیزوژنیک به چرخهٔ لیتیک می‌شود.

علاوه بر ژن رمز کنندهٔ پروتئین جلوگیری‌کننده از رونویسی، تعداد کمی از ژن‌های دیگر پروفاژ هم ممکن است در طول چرخهٔ لیزوژنی بیان شوند. بیان این ژن‌ها ممکن است فنوتیپ میزبان را تغییر دهد، پدیده‌ای که می‌تواند اهمیت زیادی در پزشکی داشته باشد. برای مثال، سه گونه باکتری که بیماری دیفتری، بوتولیسم و تب مخملک را در انسان ایجاد می‌کنند، بدون وجود ژن‌های پروفاژی که باکتری میزبان را قادر به ساختن توکسین می‌کنند، خیلی برای انسان خطرناک نخواهند بود. تفاوت بین سویه‌های *E. coli* که در رودهٔ ما زندگی می‌کنند با سویهٔ O۱۵۷:H۷ که مرگ‌های متعددی در اثر مسمومیت غذایی ایجاد کرده است، حضور پروفاژها در سویهٔ O۱۵۷:H۷ است.

1- Prophage

چرخهٔ تولید مثلی ویروس‌های جانوران

همهٔ افراد عفونت‌های ویروسی را تجربه کرده‌اند، چه تبخال و آنفلوانزا و چه سرماخوردگی. مانند تمام ویروس‌ها، ویروس‌هایی که در انسان و جانوران دیگر بیماری ایجاد می‌کنند، فقط قادر به تولیدمثل در سلول‌های میزبان هستند. تنوع زیادی در نمای کلی عفونت ویروسی و تولیدمثل در بین ویروس‌های جانوری وجود دارد. یک تنوع اصلی، طبیعت ژنوم ویروس است: ژنوم از DNA یا RNA تشکیل شده است؟ دورشته‌ای است یا تک‌رشته‌ای؟ طبیعت ژنوم اساس طبقه‌بندی معمول ویروس‌هاست که در **جدول ۱-۱۹** نشان داده شده است. RNA ویروس‌های تک‌رشته‌ای براساس نوع عملکرد ژنوم‌شان در سلول میزبان به سه کلاس(IV - VI) طبقه‌بندی می‌شوند.

با اینکه تعداد کمی از باکتریوفاژها دارای پوشش یا ژنوم RNA هستند، بسیاری از ویروس‌های جانوری هر دو را دارند. در واقع تقریباً تمام RNA ویروس‌های جانوری و بعضی از DNA ویروس‌ها، پوشش دارند (جدول ۱-۱۹ را ببینید). ما در اینجا روی نقش پوشش‌های ویروسی و همچنین عملکرد RNA به‌عنوان مادهٔ ژنتیکی بسیاری از ویروس‌های جانوری، تمرکز می‌کنیم.

پوشش‌های ویروسی

یک ویروس جانوری که مجهز به پوشش است (پوشش یک غشای خارجی است) از آن برای ورود به سلول میزبان استفاده می‌کند. گلیکوپروتئین‌های ویروسی که از سمت خارجی این پوشش بیرون زده‌اند به مولکول‌های گیرندهٔ خاص در سطح سلول میزبان متصل می‌شوند. **شکل ۷-۱۹** وقایع موجود در چرخهٔ تولید مثل یک ویروس پوشش‌دار با ژنوم RNA را نشان می‌دهد. قسمت پروتئینی گلیکوپروتئین‌های پوشش توسط ریبوزوم‌های متصل به شبکهٔ آندوپلاسمی (ER) سلول میزبان ساخته می‌شود. سپس آنزیم‌های سلولی موجود در شبکهٔ آندوپلاسمی و دستگاه گلژی قندها را اضافه می‌کنند. گلیکوپروتئین‌های ویروسی حاصل که در غشای مشتق از میزبان جاسازی شده‌اند به سطح سلول انتقال پیدا می‌کنند. در فرایندی که بسیار شبیه به اگزوسیتوز است، کپسیدهای ویروسی جدید همان‌طور که از سلول جوانه می‌زنند درون این غشا پیچیده می‌شوند. به بیان دیگر، پوشش ویروس از غشای پلاسمایی میزبان مشتق می‌شود، با این حال بعضی از مولکول‌های این غشا توسط ژن‌های ویروسی رمز می‌شوند. این ویروس پوشش‌دار اکنون می‌تواند سلول‌های دیگر را آلوده کند. این چرخهٔ تولیدمثلی برخلاف چیزی که در چرخهٔ لیتیک فاژها اتفاق می‌افتد، الزاماً سلول میزبان را از بین نمی‌برد.

جدول ۱-۱۹ کلاس‌های ویروس‌های جانوری

کلاس / خانواده	پوشش	مثال / بیماری
I . DNA دو رشته‌ای (dsDNA)		
آدنوویروس (شکل b ۳-۱۹)	خیر	بیماری‌های تنفسی، تومورها
پاپووا ویروس	خیر	ویروس پاپیلوم (زگیل، سرطان گردن رحم) پولیوما ویروس (تومورها)
هرپس‌ویروس	بله	هرپس سیمپلکس I و II (تبخال لب، تبخال تناسلی)؛ واریسلا زوستر (آبله مرغان)؛ ویروس اپشتین‌بار
پاکس‌ویروس	بله	ویروس آبله ویروس آبله گاوی
II . DNA تک رشته‌ای (ssDNA)		
پاروویروس	خیر	پاروویروس B19 (راش خفیف)
III . RNA دو رشته‌ای (dsDNA)		
رئو ویروس	خیر	روتا ویروس (اسهال) ویروس تب کنندهٔ کلرادو
IV . RNA تک رشته‌ای (ss RNA) که به‌عنوان mRNA عمل می‌کند		
پیکورناویروس	خیر	رینوویروس (سرماخوردگی) پوسیو ویروس، ویروس هپاتیت A و دیگر ویروس‌های روده‌ای
کوروناویروس	بله	سندرم حاد تنفسی شدید (SARS)
فلاوی‌ویروس	بله	ویروس تب زرد ویروس نیل غربی ویروس هپاتیت C
توگا ویروس	بله	ویروس سرخجه ویروس انسفالیت اسبی
V. ssRNA ، الگوی ساخت mRNA		
فیلوویروس	بله	ویروس ابولا (تب خونریزی دهنده)
ارتومیکسو ویروس (شکل ۳c-۱۹ و ۹a-۱۹)	بله	ویروس آنفلوانزا
پارا میکسو ویروس	بله	ویروس سرخک، ویروس اوریون
رابدو ویروس	بله	ویروس هاری
VI. ssRNA ، الگوی ساخت DNA		
رتروویروس	بله	ویروس نقص ایمنی انسان (AIDS/HIV)؛ ویروس‌های RNAدار توموری (لوکمی)

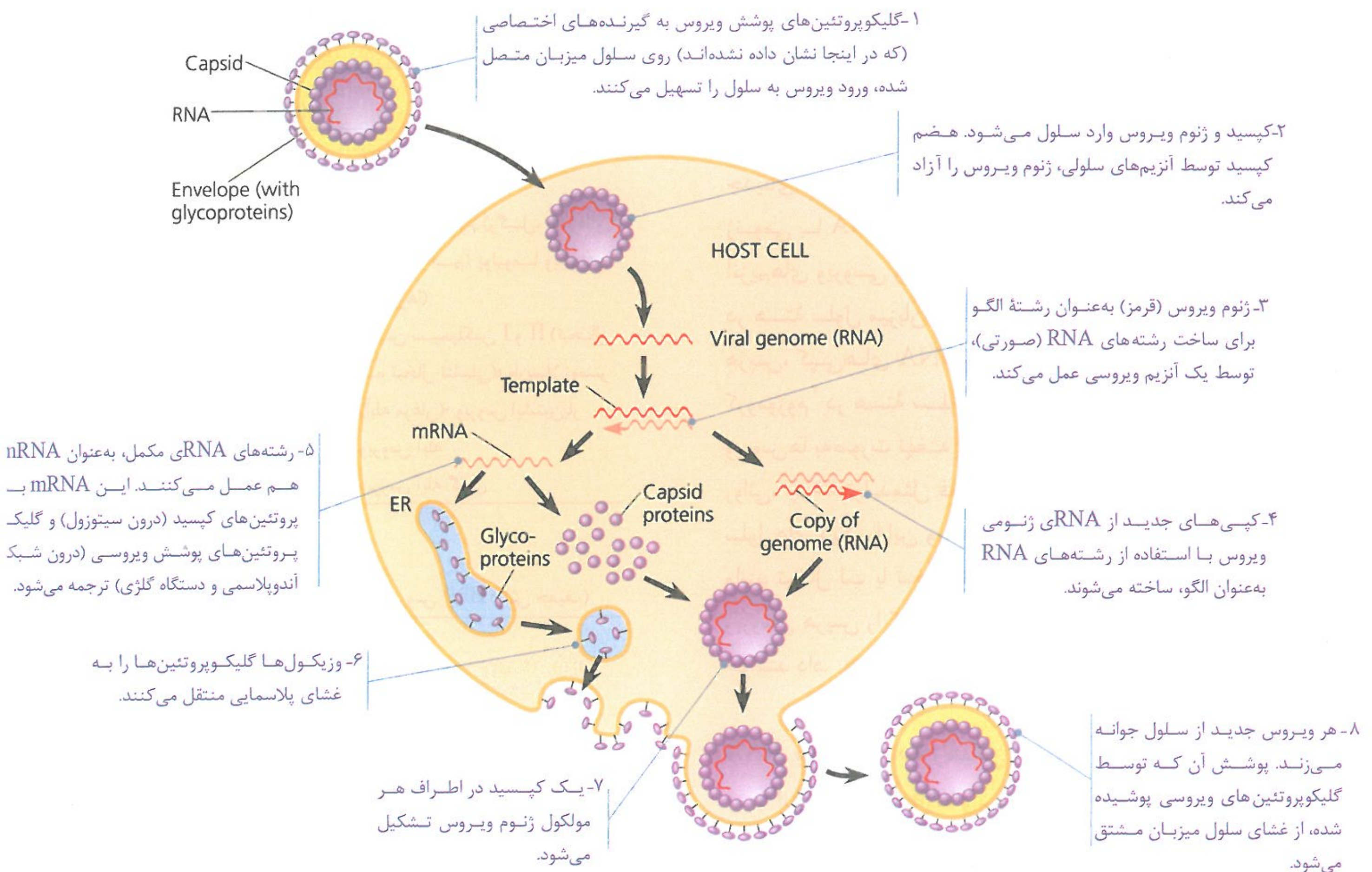
بعضی از ویروس‌ها پوشش‌هایی دارند که از غشای پلاسمایی مشتق نشده است. برای مثال ویروس هرپس[1] به طور موقت در غشایی مشتق از پوشش هستهٔ سلول میزبان پیچیده می‌شود. این ویروس سپس این غشا را در سیتوپلاسم از دست می‌دهد و پوشش جدیدی از غشای دستگاه گلژی به‌دست می‌آورد. این ویروس‌ها ژنومی با DNA دو رشته‌ای دارند و با استفاده از ترکیبی از آنزیم‌های ویروسی و سلولی برای رونویسی و ترجمهٔ DNAی خود، در هستهٔ سلول میزبان تولید مثل می‌کنند. در مورد ویروس‌های هرپس، کپی‌های DNA ویروسی می‌توانند به‌صورت مینی - کروموزوم[2] در هستهٔ سلول‌های عصبی خاصی باقی بمانند. این ویروس‌ها به‌صورت نهفته باقی می‌مانند تا نوعی محرک فیزیکی یا روانی، چرخهٔ تولیدمثل فعال ویروس را راه‌اندازی نماید. آلوده شدن سلول‌های دیگر با این ویروس‌های جدید تظاهرات تاولی هرپس، مانند تبخال لب یا تبخال تناسلی را ایجاد می‌کند. اگر کسی عفونت ویروسی هرپس را کسب کند، دوره‌های عود در طول زندگی‌اش رخ خواهند داد.

RNA به‌عنوان مادهٔ ژنتیکی ویروس

با اینکه بعضی از فاژها و بیشتر ویروس‌های گیاهی RNAدار ویروس هستند، طیف گسترده‌ای از ژنوم‌های RNA در بین ویروس‌های آلوده کنندهٔ جانوران یافت می‌شوند. در میان سه نوع ژنوم RNAی تک رشته‌ای که در ویروس‌های جانوری یافت می‌شوند، ژنوم ویروس‌های کلاس IV می‌توانند به طور مستقیم به‌عنوان mRNA عمل کرده، بلافاصله بعد از عفونت به پروتئین‌های ویروسی ترجمه شود. شکل ۷-۱۹ یک ویروس از کلاس V را نشان می‌دهد که در آن ژنوم RNA به‌عنوان ***الگویی*** برای ساخت mRNA عمل می‌کند. ژنوم RNA به رشته‌های مکمل RNA رونویسی می‌شود. این رشته‌ها، هم به‌عنوان mRNA و هم به‌عنوان الگو برای ساخت کپی‌های اضافی از RNAی ژنومی عمل می‌کنند. تمام ویروس‌هایی که احتیاج به سنتز RNA←RNA، برای ساخت mRNA دارند، دارای یک آنزیم ویروسی برای انجام این فرایند می‌باشند. در بیشتر سلول‌ها چنین آنزیمی وجود ندارد. این آنزیم ویروسی همراه ژنوم در داخل کپسید ویروس بسته‌بندی می‌شود.

ویروس‌های RNAدار جانوری که پیچیده‌ترین چرخه‌های تولیدمثلی را دارند، ***رتروویروس‌ها***[3] (کلاس VI) می‌باشند. این

1- Herpesviruse
2- Mini-chromosome
3- Retroviruses



شکل ۷-۱۹ چرخهٔ تولیدمثل یک RNA ویروس پوشش‌دار. *در اینجا یک ویروس با ژنوم RNAی تک رشته‌ای که به‌عنوان الگویی برای ساخت mRNA عمل می‌کند، نشان داده شده است. بعضی از ویروس‌های پوشش‌دار از طریق ترکیب پوشش خود با غشای پلاسمایی سلول، وارد سلول میزبان می‌شوند. بعضی دیگر از طریق اندوسیتوز به درون سلول راه می‌یابند. برای تمام RNA ویروس‌های پوشش‌دار، تشکیل پوشش جدید برای ویروس‌های جدید، از طریق مکانیسمی که در اینجا نشان داده شده، اتفاق می‌افتد.*

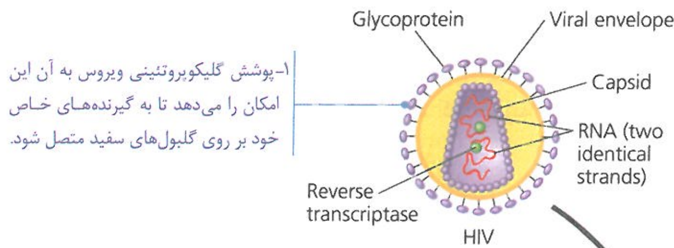
؟ یک ویروس نام ببرید که شما را آلوده کرده است و چرخهٔ تولیدمثل مشابه این ویروس دارد. (راهنمایی: جدول ۱-۱۹ را ببینید).

ویروس‌ها مجهز به آنزیمی به نام **رونوشت‌بردار معکوس**[1] هستند. این آنزیم رشتهٔ الگوی RNA را به DNA رونویسی کرده، یک جریان اطلاعاتی RNA←DNA فراهم می‌آورد که خلاف جهت معمول است. این پدیدهٔ غیر معمول منشأ نام رتروویروس (رترو به معنی عقب‌گرد) می‌باشد. **HIV (ویروس نقص ایمنی انسان)**[2] که اهمیت زیادی در پزشکی دارد رتروویروسی است که **AIDS (سندرم نقص ایمنی اکتسابی)**[3] را ایجاد می‌کند. HIV و دیگر رتروویروس‌ها، ویروس‌های پوشش‌داری هستند که دو مولکول یکسان از RNAی تک رشته‌ای و دو مولکول از رونوشت بردار معکوس دارند.

شکل ۸-۱۹ چرخهٔ تولید مثل HIV را دنبال می‌کند. این چرخه معمولاً در رتروویروس‌ها وجود دارد. پس از ورود HIV به سلول میزبان، مولکول‌های رونوشت بردار معکوس آن به درون سیتوپلاسم رها می‌شوند. در سیتوپلاسم، مولکول‌های رونوشت بردار معکوس سنتز DNAی ویروسی را کاتالیز می‌کنند. سپس DNAی ویروسی تازه‌ساز، وارد هستهٔ آن سلول شده و داخل DNAی کروموزومی هسته می‌شود. DNAی ویروسیِ درج‌شده، یک **پروویروس** نامیده می‌شود که هرگز از ژنوم میزبان خارج نمی‌شود و به‌طور دایم در سلول میزبان باقی می‌ماند. (به‌خاطر داشته باشید که پروفاژ، برخلاف پروویروس، در شروع چرخهٔ لیتیک، ژنوم میزبان را ترک می‌کند.) RNA پلی‌مراز میزبان مولکول‌های RNA را از روی DNAی ویروسی، رونویسی می‌کند که هم به عنوان mRNA برای

1- Riverse transcriptase
2- Human immunodeficiency virus
3- Acquired immunodeficiency syndrome

شکل ۸-۱۹ چرخهٔ تولید مثل HIV، رتروویروسی که ایجاد AIDS می‌کند. توجه کنید که در مرحلهٔ چهار، *DNA* ای که از *RNA* ی ویروس ساخته شده است وارد ژنوم سلول میزبان می‌شود و این مشخصهٔ خاص رتروویروس‌هاست. عکس‌های سمت چپ (تصاویر *TEM* که به طور مصنوعی رنگ آمیزی شده‌اند) ورود ویروس *HIV* را به گلبول‌های سفید انسان نشان می‌دهند.





HIV entering a cell

۲-ویروس با غشای پلاسمایی ادغام می‌شود، پروتئین‌های کپسید برداشته می‌شوند و پروتئین‌ها و *RNA* ی ویروس آزاد می‌گردند.

HOST CELL

Reverse transcriptase

Viral RNA

RNA-DNA hybrid

DNA

NUCLEUS

Provirus

Chromosomal DNA

RNA genome for the next viral generation

mRNA

۳-رونوشت بردار معکوس، سنتز رشتهٔ DNAی مکمل RNAی ویروسی را کاتالیز می‌کند.

۴-رونوشت بردار معکوس، سنتز رشتهٔ DNAی دوم که مکمل رشتهٔ اول است، را کاتالیز می‌کند.

۵-مولکول *DNA* ی دو رشته‌ای به‌عنوان پرو ویروس وارد *DNA* ی سلول می‌شود.

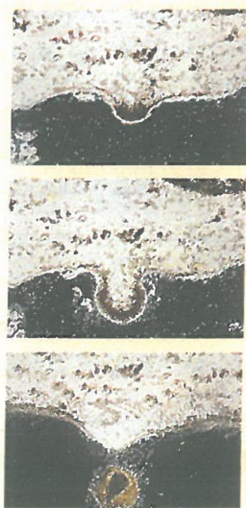
۶-ژن‌های پرو ویروس به مولکول‌های RNA ترجمه می‌شوند که این‌ها خود به‌عنوان ژنوم برای نسل‌های بعدی ویروس و mRNA برای ترجمه به پروتئین‌های ویروسی به‌کار می‌روند.

۷-پروتئین‌های ویروسی شامل پروتئین‌های کپسید و رونوشت بردار معکوس (که در سیتوپلاسم ساخته شده‌اند) و گلیکوپروتئین‌های پوشش (که در شبکهٔ آندوپلاسمی زبر ساخته می‌شوند) می‌باشند.

۸-وزیکول‌ها گلیکوپروتئین‌ها را به غشای پلاسمایی انتقال می‌دهند.

۹-کپسیدها دور ژنوم و مولکول‌های رونوشت بردار معکوس را فرا می‌گیرند.

۱۰-ویروس جدید از سلول میزبان جوانه می‌زند.



New HIV leaving a cell

سنتز پروتئین‌های ویروسی و هم به عنوان ژنوم ویروس‌های جدید می‌تواند عمل کند. ویروس‌های جدید تجمع یافته و از آن سلول آزاد می‌شوند. در فصل ۴۳، توضیح خواهیم داد که چگونه HIV موجب زوال سیستم ایمنی در بیماری ایدز می‌شود.

تکامل ویروس‌ها

تکامل ما این فصل را با این سؤال آغاز کردیم که آیا ویروس‌ها زنده هستند یا نه؟ در واقع ویروس‌ها دقیقاً مطابق تعریف ما از موجودات زنده نیستند. یک ویروس به تنهایی غیر فعال است و توانایی همانندسازی ژن‌های خود و یا ساختن ATP را ندارد. اما دارای برنامه‌ی ژنتیکی نوشته شده با زبان بین‌المللی حیات است. ما ویروس‌ها را به‌عنوان پیچیده‌ترین ارتباطات مولکولی می‌شناسیم یا ساده‌ترین نوع حیات؟ در هر دو صورت، ما باید کمی در تعریف خود از حیات تغییر ایجاد کنیم. با آنکه ویروس‌ها توانایی همانندسازی و یا فعالیت‌های متابولیک را به تنهایی ندارند، وجود رمزهای ژنتیکی موجب می‌شوند تا ارتباط تکاملی آنها را با دنیای زنده نتوان تکذیب کرد.

منشأ ویروس‌ها چیست؟ ویروس‌ها تمامی شکل‌های حیات را آلوده می‌کنند. نه تنها باکتری‌ها، جانوران و گیاهان بلکه آرکی‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها و سایر آغازیان را نیز آلوده می‌کنند. از آنجایی‌که ویروس‌ها برای فعالیت‌های خود نیازمند سایر سلول‌ها هستند به‌نظر نمی‌رسد که در مراحل حیاتِ پیش‌سلولی موجود بوده باشند اما پس از پیدایش سلول‌ها وارد چرخهٔ تکامل شده‌اند. توجه بیشتر زیست‌شناسان مولکولی بر این فرضیه است که ویروس‌ها حاصل انتقال تکه‌ای از نوکلئیک اسید از یک سلول به سلول دیگر هستند که می‌تواند به دنبال آسیب غشای سلولی رخ داده باشد. تکامل ژن‌های رمز کنندهٔ کپسید موجب تسهیل آلوده کردن سلول‌های آسیب‌دیده شده است. کاندیدهایی که به‌عنوان منشأ برای ژنوم ویروس‌ها مطرح هستند پلازمید و ترانسپوزون‌ها می‌باشند. پلازمیدها مولکول‌های DNAی کوچک و حلقوی هستند که در باکتری‌ها و یوکاریوت‌های تک‌سلولی که به آنها مخمر گفته می‌شود یافت می‌شوند. پلازمیدها مستقل از ژنوم سلول هستند و می‌توانند جداگانه همانندسازی کرده و یا از سلولی به سلول دیگر منتقل گردند. ترانسپوزون‌ها قطعاتی از ژنوم سلول هستند که می‌توانند از جایگاهی در ژنوم به جایگاه دیگر منتقل شوند. بنابراین نکتهٔ بسیار مهمی میان ویروس‌ها، پلازمیدها و ترانسپوزون‌ها مشترک است: آنها عناصر متحرک ژنتیکی هستند. ما در مورد پلازمید در فصول ۲۰ و ۲۷ و در مورد ترانسپوزون‌ها در فصل ۲۱ به تفصیل صحبت خواهیم کرد.

پافشاری بر این دیدگاه که قطعات DNA از سلولی به سلول دیگر می‌روند ما را به این نتیجه می‌رساند که ژنوم ویروس‌ها می‌توانند اشتراک بیشتری با ژنوم میزبان خود داشته باشند تا با ژنوم سایر ویروس‌ها که میزبان‌های دیگر را آلوده می‌کنند. از سوی دیگر، تحقیقات اخیر بر روی توالی ژنوم ویروس‌ها نشان داده است که توالی ژنتیکی برخی از ویروس‌ها کاملاً شبیه یکدیگر است، درحالی‌که ظاهراً خویشاوندی دوری با یکدیگر دارند. برای مثال برخی از ویروس‌های جانوری توالی‌هایی مشابه برخی از ویروس‌های گیاهی دارند. این تشابهات ژنتیکی می‌تواند نشانه‌ای از برجا ماندن گروهی از ژن‌های ویروسی باشد که در ابتدای تکامل سلول‌ها و سلول‌های یوکاریوتی میزبان، توسط انتخاب طبیعی برگزیده شده‌اند.

بحث در مورد منشأ ویروس‌ها پس از شناخته شدن می‌می‌ویروس‌ها[1] (بزرگ‌ترین ویروس‌هایی که تا کنون شناخته شده‌اند) مجدداً بالا گرفته است. می‌می‌ویروس‌ها ویروس‌های DNA داری هستند که کپسیدی به قطر ۴۰۰nm دارند (ابتدای نام این ویروس از کلمهٔ Mimicking microbe یعنی تقلید کنندهٔ میکروب گرفته شده است. زیرا این ویروس به اندازهٔ یک باکتری کوچک است). ژنوم این ویروس دارای ۱/۲ میلیون باز آلی است (تقریباً ۱۰۰ برابر ویروس آنفلوانزا) و در حدود ۱۰۰۰ ژن دارد. شاید جالب‌ترین نکته در مورد ژنوم می‌می‌ویروس‌ها این باشد که برخی ژن‌های آنها پروتئین‌هایی را رمز می‌کنند که در گذشته به‌عنوان علامت تشخیصی ژنوم سلولی بوده‌اند. این محصولات شامل پروتئین‌هایی است که در فرایندهای ترجمه، بازسازی DNA، تاخوردن پروتئین‌ها و ساخت پلی‌ساکاریدها بکار می‌روند. محققینی که می‌می‌ویروس‌ها را توصیف کرده‌اند بیان می‌دارند که اینها پیش از اولین سلول‌ها تکامل یافته‌اند و سپس رابطهٔ استثماری با آنها برقرار کرده‌اند. برخی از دانشمندان با این نظر مخالفند و کماکان بر این باورند که ویروس‌ها بسیار بعدتر از سلول‌ها تکامل یافته‌اند و به سادگی ژن‌های خود را از سلول‌های میزبان خود دریافت کرده‌اند. این سؤال که آیا برخی سلول‌ها شاخهٔ مجزای خود را در درخت زیستی داشته‌اند ممکن است برای مدتی بدون پاسخ بماند.

رابطهٔ تکاملی که اکنون بین ویروس‌ها و سلول‌های میزبان آنها در جریان است ویروس‌ها را ابزاری بسیار کارآمد در زمینهٔ تحقیقات بیولوژی مولکولی می‌سازد. اطلاعات در مورد ویروس‌ها بسیار ارزشمند است زیرا ویروس‌ها تأثیر بسزایی بر روی تمامی جانداران به لحاظ قدرت بیماری‌زایی در آنها دارند.

1- Mimiviruses

پرسش‌های مبحث ۲-۱۹

۱. تأثیرات فاژ لیتیک (حاد) و فاژ لیزوژنیک (معتدل) را بر روی سلول میزبان با هم مقایسه کنید.

۲. ارتباط دهید ویروس RNA دار در شکل ۷-۱۹ دارای یک RNA پلی‌مراز ویروسی است که در گام ۳ از چرخهٔ تولیدمثل ویروس فعالیت می‌کند. این RNA پلی‌مراز را از لحاظ الگو و عملکرد کلی با RNA پلی‌مراز شکل ۹-۱۷ مقایسه کنید.

۳. چرا HIV یک رتروویروس خوانده می‌شود؟

۴. چه می‌شد اگر؟ اگر شما محققی بودید که سعی در مبارزه با عفونت HIV را داشتید، تلاش در مهار کردن کدام‌یک از فرایند مولکولی می‌کردید؟ (به شکل ۸-۱۹ مراجعه کنید)

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۱۹ ویروس‌ها، ویروئیدها و پریون‌ها بیماری‌زاهای خطرناکی برای جانوران و گیاهان هستند

بیماری‌هایی که توسط عفونت‌های ویروسی ایجاد می‌شوند انسان‌ها، محصولات کشاورزی و دام‌ها را در تمامی دنیا تحت تأثیر قرار می‌دهند. سایر عوامل کوچک‌تر و ساده‌تر که به‌عنوان ویروئیدها و پریون‌ها شناخته می‌شوند نیز در گیاهان و جانوران ایجاد بیماری می‌کنند.

بیماری‌های ویروسی در جانوران

عفونت‌های ویروسی می‌توانند از طرق مختلفی علائم بیماری را ایجاد کنند. ویروس‌ها می‌توانند از طریق آزادسازی آنزیم‌های هیدرولیز کننده از لیزوزوم‌ها موجب تخریب یا مرگ سلول گردند. برخی ویروس‌ها موجب می‌شوند تا سلول آلوده تولید توکسین‌هایی را بکند که موجب بروز علائم بیماری شوند. برخی دارای ترکیبات مولکولی هستند که سمی‌اند مثل پروتئین‌های پوشش. میزان تخریبی که یک ویروس توانایی ایجاد آن‌را دارد تا حدی وابسته به قدرت تجدید بافت آلوده شده توسط تقسیم سلولی است. مردم اغلب به‌طور کامل پس از ابتلا به سرماخوردگی بهبود می‌یابند زیرا بافت پوششی دستگاه تنفسی که توسط ویروس آلوده می‌گردد، می‌تواند خود را به طور کامل ترمیم کند. در عوض، تخریب ناشی از پولیوویروس‌ها (عامل فلج اطفال) در سلول‌های عصبی بالغ دائمی است، زیرا این سلول‌ها تقسیم نمی‌شوند و معمولاً نمی‌توان آنها را جایگزین نمود. بسیاری از علائم موقتی در عفونت‌های ویروسی مثل تب و درد در واقع حاصل تلاش خود بدن در مقابل عفونت است تا مرگ سلولی به علت ویروس‌ها.

سیستم ایمنی، سیستمی پیچیده و قسمتی مهم از دفاع طبیعی بدن است (به فصل ۴۳ مراجعه فرمایید). همچنین پایه‌ای برای ساخت ابزار پزشکی در مقابله با عفونت‌های ویروسی از جمله واکسن‌ها است ـــ ***واکسن*** گونه‌ای بدون خطر یا قسمتی از یک بیماری‌زا است که سیستم ایمنی را تحریک می‌کند تا در مقابل بیماری‌زا عمل کند. آبله، یک بیماری ویروسی است که زمانی در بسیاری از نقاط جهان خسارات ویرانگری را بر جای می‌گذاشت. اما هم‌اکنون به‌واسطهٔ برنامهٔ واکسیناسیونی که توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) برنامه‌ریزی شده ریشه‌کن شده است. گسترهٔ اندک میزبان در این ویروس – این ویروس تنها توانایی بیماری‌زایی در انسان را داراست – عامل بسیار مهمی در موفقیت این برنامه به شمار می‌رود. برنامه‌های مشابهی در مورد فلج اطفال و سرخک در جهان در حال اجراست. واکسن‌های تأثیرگذاری همچنین برای سرخجه، اوریون، هپاتیت B و تعدادی دیگر از بیماری‌های ویروسی اکنون در دسترس است.

با اینکه واکسن‌ها می‌توانند از بروز برخی بیماری‌های ویروسی جلوگیری کنند تکنولوژی پزشکی تاکنون توانایی اندکی را برای درمان بسیاری از عفونت‌های ویروسی دارد. آنتی‌بیوتیک‌ها که به ما کمک می‌کنند تا در عفونت‌های باکتریایی بهبود یابیم در مقابل ویروس‌ها ناتوانند. آنتی‌بیوتیک‌ها باکتری‌ها را از طریق مهار کردن آنزیم‌های خاصی که در باکتری‌ها وجود دارد می‌کشند و تأثیری بر روی یوکاریوت‌ها و آنزیم‌های ویروسی ندارند، اما تعدادی آنزیم که توسط ویروس‌ها ساخته می‌شوند هدفی برای برخی داروها گشته‌اند. بیشتر داروهای ضد ویروس شبیه نوکلئوزیدها هستند و در روند سنتز نوکلئیک اسید ویروس اختلال ایجاد می‌نمایند. از آسیکلوویر[1] می‌توان به‌عنوانه نمونه‌ای برای این گروه از داروها نام برد که مانع از تکثیر ویروس هرپس از طریق مهار پلی‌مراز ویروسی می‌شود. بر همین اساس آزیدوتیمیدین[2] (AZT) نیز تکثیر HIV را از طریق ایجاد اختلال در سنتز DNA توسط رونوشت بردار معکوس محدود می‌کند. در دو دهۀ گذشته، تلاش بسیاری برای تولید داروهای ضد HIV انجام شده است. در حال حاضر درمان چند دارویی که با نام «کوکتل» معروف است اثر بیشتری داشته است. این رژیم‌های درمانی به‌طور معمول شامل دو داروی تقلیدکنندهٔ نوکلئوزیدی و یک مهار کنندهٔ پروتئاز است که سبب ایجاد اختلال در آنزیمی می‌شوند که ویروس را تشکیل می‌دهد.

1- Acyclovir
2- Azidothymidine

ویروس‌های نوظهور

ویروس‌هایی که ناگهانی پدید می‌آیند و یا دانشمندان پزشکی تازه با آنها برخورد می‌کنند به‌عنوان ویروس‌های نوظهور شناخته می‌شوند. HIV، ویروس بیماری AIDS، یک نمونهٔ کلاسیک از این دسته ویروس‌هاست. این ویروس در اوایل دههٔ ۸۰ در سان‌فرانسیسکو دیده شد. البته در مطالعات بعدی مشخص شد که قبلاً نمونه‌ای نیز در سال ۱۹۵۹ در کنگو وجود داشته است. ویروس کشندهٔ ابولا[1] که در سال ۱۹۷۶ در مرکز آفریقا شناخته شد یکی از چندین ویروس نوظهوری است که موجب ایجاد تب هموراژیک[2] (نوعی سندرم کشنده که با تب، استفراغ، خونریزی شدید و اختلال در سیستم گردش خون شخص همراه است) می‌شود. برخی دیگر از ویروس‌های نوظهور خطرناک می‌توانند موجب انسفالیت یعنی التهاب مغز شوند. نمونهٔ آن ویروس نیل غربی[3] است که در سال ۱۹۹۹ در آمریکای شمالی شناخته شد و به ۴۸ ایالت سرایت کرد.

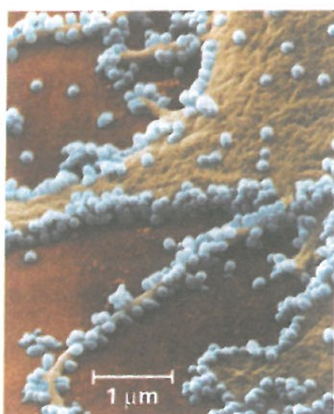
در اپریل ۲۰۰۹، یک همه‌گیری عمومی، یا **اپیدمی** از یک بیماری شبه آنفلوانزایی در مکزیک و ایالات متحده مشاهده شد. عامل عفونی این بیماری یک ویروس آنفلوانزای مشابه با ویروس‌های عامل آنفلوانزای فصلی بود که به سرعت شناسایی شد (**شکل ۹a-۱۹**). این ویروس خاص به دلایلی که شرح داده خواهند شد، H۱N۱ نامیده شد. این بیماری ویروسی به سرعت انتشار یافت و باعث شد در ژوئن ۲۰۰۹ که، سازمان بهداشت جهانی (WHO) یک اپیدمی جهانی یا **پاندمی را** هشدار دهد. تا نوامبر ۲۰۰۹، این بیماری به ۲۰۷ کشور رسیده بود، بیش از ۶۰۰,۰۰۰ انسان را آلوده کرده و حدود ۸,۰۰۰ نفر را کشته بود. دست‌اندرکاران بهداشت عمومی با توصیه برای تعطیل کردن مدارس و سایر اماکن عمومی و پیشرفت واکسن‌ها به سرعت عکس‌العمل نشان دادند و تلاش‌ها برای غربال‌گری سرعت گرفتند (**شکل ۹b-۱۹**).

این‌گونه ویروس‌ها چگونه در بین انسان‌ها شیوع می‌یابند و موجب بیماری‌های مضری می‌شوند که قبلاً نادر بودند یا اصلاً مشاهده نمی‌شدند؟ سه فرایند موجب ایجاد بیماری‌های نوظهور ویروسی می‌شوند. اول و شاید از همه مهمتر، جهش در یک ویروس از قبل موجود است. ویروس‌های RNAدار دارای میزان بالایی از جهش هستند زیرا اشتباهاتی که در طی تکثیر ژنوم RNAیی رخ می‌دهد تصحیح نمی‌گردند. برخی از این جهش‌ها ویروس حاضر را به گونهٔ جدیدی تبدیل می‌کند که می‌توانند ایجاد بیماری کنند، حتی در افرادی که به ویروس قبلی ایمن بوده‌اند. برای مثال همه‌گیری‌های آنفلوانزا یا اپیدمی‌های آن، به علت ایجاد گونه‌های جدیدی از آنفلوانزا رخ می‌دهد که مردم به آن ایمنی ندارند.

فرایند دومی که موجب ایجاد بیماری‌های ویروسی نوظهور می‌شود پخش شدن یک بیماری ویروسی از یک جمعیت کوچک و مجزای انسانی می‌باشد. برای مثال AIDS سال‌ها بدون نام و نشان و بدون اینکه به آن توجهی شود میان مردم پخش می‌شد. در این مورد، عوامل تکنولوژیکی و اجتماعی مثل توانایی مسافرت‌های بین‌المللی، انتقال خون، رفتارهای پر خطر جنسی و استفاده از مواد مخدر تزریقی موجب شد تا این بیماری ناشایع در بین مردم پخش شود.



(a) **پاندمی آنفلوانزای ویروسی H۱N۱ در سال ۲۰۰۹.** ویروس‌ها (به رنگ آبی) در این SEM رنگ‌آمیزی شده، بر روی یک سلول آلوده (به رنگ سبز) دیده می‌شوند.



(b) **غربال‌گری پاندمی در سال ۲۰۰۹.** در یک فرودگاه کره جنوبی، با استفاده از حسگرهای حرارتی، مسافرانی را که تب داشتند و احتمالاً دارای آنفلوانزای H۱N۱ بودند، شناسایی می‌کردند.



(C) **پاندمی آنفلوانزا در سال ۱۹۱۸.** بسیاری از افراد آلوده در بیمارستان‌های بزرگی مثل آنچه در تصویر می‌بینید تحت درمان قرار می‌گرفتند.

◄ شکل ۹- ۱۹ **آنفلوانزا در انسان.**

1- Ebola virus
2- Hemorrhagic fever
3- West Nile virus

منشأ سوم برای ایجاد بیماری‌های نوظهور ویروسی در میان انسان‌ها انتقال ویروس از حیوانات به انسان است. دانشمندان براین اعتقادند که در حدود سه چهارم از بیماری‌های جدید در انسان‌ها از این طریق شکل می‌گیرند. حیواناتی که آلوده به ویروس هستند و توانایی انتقال آن را دارند اما تحت تأثیر آن قرار ندارند (علائم بیماری را نشان نمی‌دهند)، به‌عنوان مخزن‌های طبیعی برای آن ویروس خاص شناخته می‌شوند. برای مثال پاندمی آنفلوانزا در سال ۲۰۰۹ که قبلاً ذکر شد، احتمالاً از خوک‌ها به انسان‌ها انتقال یافت؛ به این دلیل در ابتدا «آنفلوانزای خوکی» نامیده شد.

اپیدمی‌های آنفلوانزا مثال مناسبی از تأثیر تغییر گونهٔ یک ویروس بر روی زندگی انسان است. ویروس آنفلوانزا سه نوع مختلف دارد. تیپ B و C که تنها انسان را آلوده می‌کنند و هیچ‌گاه ایجاد اپیدمی نکرده‌اند و تیپ A که گسترهٔ وسیعی از حیوانات مثل پرندگان، خوک‌ها، اسب‌ها و انسان‌ها را آلوده می‌کند. گونه‌های تیپ A آنفلوانزا طی صد سال گذشته سه اپیدمی بزرگ را ایجاد کرده‌اند. بدترین آنها پاندمی (اپیدمی جهانی) آنفلوانزای اسپانیایی بود که در سال‌های ۱۹۱۹ – ۱۹۱۸ رخ داد و ۴۰ میلیون نفر که شامل بسیاری از سربازان جنگ جهانی اول هم می‌شدند را به کام مرگ کشاند (**شکل ۹c-۱۹**). مدارک حاکی از آن بودند که منشأ این آنفلوانزا پرندگان بوده‌اند.

سویه‌های مختلف آنفلوانزای تیپ A اسم‌های خاصی دارند برای مثال سویه‌ای که آنفلوانزای ۱۹۱۸ را پدید آورد H1N1 نامیده می‌شود. نام ویروس نشان می‌دهد که کدام‌یک از دو نوع پروتئین سطحی ویروس وجود دارند: هماگلوتینین (H) و نورآمینیداز (N). شانزده نوع مختلف هماگلوتینین وجود دارد که به ویروس آنفلوانزا کمک می‌کند تا به سلول‌های میزبان متصل شوند. ۹ نوع مختلف نورآمینیداز هم وجود دارد که موجب می‌شود قطعات جدید ویروسی از سلول‌های آلوده آزاد شوند. پرندگان دریایی به‌عنوان مخزنی برای ویروس‌هایی شناخته شده‌اند که انواع مختلفی از ترکیب‌های ممکن H و N را دارا هستند.

یک سناریوی ممکن برای پاندمی ۱۹۱۸ و سایر پاندمی‌ها، ایجاد جهش در حین انتقال ویروس از یک‌گونه میزبان به میزبان دیگر است. هنگامی که یک جانور مانند یک خوک یا یک مرغ به بیش از یک سویه از ویروس آنفلوانزا آلوده می‌شود، اگر مولکول‌های RNAی تشکیل دهندهٔ ژنوم این ویروس‌ها با یکدیگر مخلوط شوند و طی گردایش ویروسی با یکدیگر ترکیب شوند، می‌توانند نوترکیبی ژنتیکی انجام دهند. تصور می‌شود خوک‌ها میزبان تولید مثلی ویروس آنفلوانزای سال ۲۰۰۹ بوده‌اند، ویروسی که حاوی توالی‌هایی از ویروس‌های آنفلوانزای انسانی، خوکی و مرغی است. این بازآرایی‌ها به همراه جهش، می‌توانند ویروس جدیدی را به‌وجود آورند که قادر است سلول‌های انسانی را نیز آلوده کند. انسان‌هایی که قبلاً هرگز با این سویهٔ خاص برخورد نداشته‌اند، به آن ایمن نخواهند بود و ویروس نوترکیب می‌تواند بسیار بیماری‌زا باشد. اگر این ویروس آنفلوانزا با ویروس‌هایی که سرایت زیادی در میان انسان‌ها دارند، مخلوط شود، ممکن است بتواند به آسانی از انسانی به انسان دیگر انتقال یابد و این خود پتانسیل ایجاد یک همه‌گیری بزرگ انسانی را بسیار افزایش می‌دهد.

اگرچه آنفلوانزای H1N1 در سال ۲۰۰۹ یک پاندمی قلمداد شد، اما خسارات جانبی آن به طور قابل توجهی کم‌تر از آنفلوانزای سال ۱۹۱۸ بود. لکن، ۷۹٪ از موارد محرز H1N1 در سال ۲۰۰۹ در افراد زیر ۳۰ سال رخ دادند، و بیشترین میزان مرگ و میر در انسان‌های زیر ۶۴ سال رخ داد، یعنی برخلاف الگویی که برای آنفلوانزای فصلی دیده شد. برخی دانشمندان فرض کردند که ویروس آنفلوانزای سال ۱۹۱۸ نیای اغلب ویروس‌های H1N1 بعدی بود که اپیدمی به‌وجود آوردند، از جمله ویروسی که پاندمی ۲۰۰۹ را ایجاد کرد. افراد مسن احتمالاً با ویروس‌های H1N1 اولیه تماس داشته‌اند و ممکن است به آنها ایمن شده باشند. این امر می‌توانست توضیح دهد که چرا تماس با ویروس H1N1 سال ۲۰۰۹ برای افراد جوان کشنده‌تر بود. افراد جوان با احتمال کمتری با ویروس‌های H1N1 برخورد داشته و دفاع ایمنی تشکیل داده‌اند.

شاید آنفلوانزای مرغی، تهدید طولانی‌مدت‌تری است که توسط ویروس H5N1 به‌وجود می‌آید. پرندگان اهلی و وحشی حامل ویروس H5N1 هستند. اولین انتقال مستند این ویروس به انسان‌ها در سال ۱۹۹۷ بود. در سال ۱۹۹۷، ۱۸ نفر در هنگ‌کنگ توسط H5N1 آلوده شدند و در نهایت ۶ نفر آنها مردند. در حالی‌که ویروس آنفلوانزای سال ۲۰۰۹ به آسانی از انسانی به انسان دیگر انتقال یافت، گزارشات انتقال انسان به انسان آنفلوانزای مرغی H5N1 کاملاً نادر هستند. اما آنچه که بیشتر مورد توجه قرار دارد، میزان کلی مرگ و میر ویروس H5N1 است، که بیش از ۵۰٪ است. علاوه بر این، طیف میزبانی H5N1 در حال گسترش است، که این امر موجب می‌شود تا احتمال ایجاد سویه‌های جدید ویروس، از طریق بازآرایی مادهٔ ژنتیکی سویه‌های مختلف، افزایش یابد. اگر چنین اتفاقی رخ دهد و ویروس آنفلوانزای مرغی H5N1، توانایی انتقال انسان به انسان را پیدا کند، آنگاه می‌تواند مانند پاندمی سال ۱۹۱۸ یک تهدید بزرگ برای بهداشت جهانی محسوب شود.

همان‌طور که مشاهده کردید، پدیدهٔ به‌وجود آمدن ویروس‌های نوظهور امری تازه نیست. آنها ویروس‌هایی هستند که قبلاً زندگی می‌کردند و اکنون تنها جهش یافته، در میان

میزبان‌های فعلی بیشتر گسترده شده و یا میزبان‌های جدیدی یافته‌اند. تغییر در الگوی رفتاری میزبان و یا محیط اطراف آن می‌تواند احتمال ایجاد ویروس‌های نوظهور را افزایش دهد. برای مثال، یک جادهٔ جدید می‌تواند ویروس را به جمعیتی مجزا از انسان‌ها برساند که قبلاً با چنین ویروسی برخورد نداشتند. همچنین تخریب جنگل‌ها برای گسترش شبکه‌های بزرگ‌راهی می‌تواند انسان‌ها را در معرض حیواناتی قرار دهد که میزبان ویروس‌هایی هستند که توان آلوده ساختن انسان‌ها را نیز دارا باشند.

بیماری‌های ویروسی در گیاهان

بیش از ۲,۰۰۰ نوع بیماری ویروسی در گیاهان شناخته شده‌اند که روی هم سالانه ۱۵ میلیارد دلار در سراسر جهان به محصولات کشاورزی خسارت وارد می‌کنند. علامت‌های شایع در بیماری‌های ویروسی گیاهان شامل لک‌های قهوه‌ای بر روی برگ‌ها و میوه‌ها، عقب ماندگی در رشد، گل‌ها و یا ریشه‌های آسیب دیده است که همگی موجب از بین رفتن کیفیت محصولات می‌شوند **(شکل ۱۰-۱۹)**.

ساختار پایه‌ای و نحوهٔ تکثیر ویروس‌های گیاهی مشابه ویروس‌های جانوری است. بیشتر ویروس‌های گیاهی شناخته‌شده تاکنون، مثل ویروس موزائیک تنباکو (TMV) دارای ژنوم RNAی هستند. کپسید اکثر آنها مانند TMV (شکل ۳-۱۹ را ببینید) به‌صورت مارپیچی است و مابقی کپسیدی بیست‌وجهی دارند.

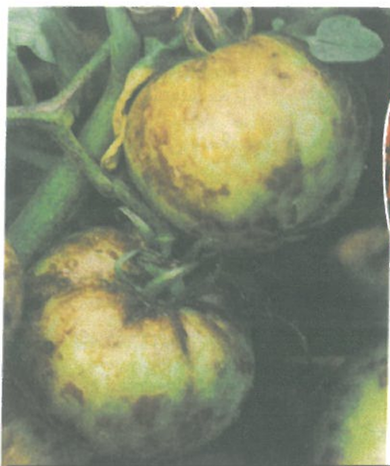
بیماری‌های ویروسی در گیاهان از دو مسیر اصلی انتقال می‌یابند. در راه اول که به آن انتقال افقی نیز گفته می‌شود گیاه توسط یک منشأ خارجی آلوده می‌شود. از آنجایی‌که ویروس باید از سطح خارجی محافظت کنندهٔ گیاه (لایهٔ اپیدرم) عبور کند، اگر گیاهی توسط باد یا سایر عوامل آسیب ببیند مستعد عفونت می‌گردد. گیاه‌خواران، به‌ویژه حشرات، خطری دوگانه محسوب می‌شوند، زیرا هم لایهٔ محافظ گیاه را تخریب می‌کنند و هم می‌توانند به‌عنوان ناقلی برای ویروس، آن را از گیاهی به گیاه دیگر انتقال دهند. کشاورزان و باغداران نیز با استفاده از ابزارآلات خود می‌توانند عمل مشابهی را انجام دهند. راه‌دیگر انتقال در گیاهان انتقال عمودی است که در این حالت گیاه عفونت را از والدین خود به ارث می‌برد. انتقال عمودی می‌تواند در روش‌های تکثیر غیر جنسی مثل قطعه قطعه شدن و یا تولید مثل جنسی رخ دهد.

هنگامی‌که ویروس وارد یک سلول گیاهی می‌شود و شروع به تکثیر می‌کند، ژنوم ویروس و پروتئین‌های مربوط به آن می‌توانند از طریق پلاسمودسم‌ها در گیاه پخش شوند. پلاسمودسم اتصال سیتوپلاسمی موجود در منافذ دیوارهٔ سلولی در سلول‌های مجاور است (به شکل ۲۰-۳۶ مراجعه کنید). عبور درشت مولکول‌های ویروسی از یک سلول به سلول مجاور توسط پروتئین‌های ویروسی که موجب بزرگ شدن پلاسمودسم‌ها می‌شوند تسهیل می‌گردد. دانشمندان تا کنون نتوانسته‌اند برای اکثر بیماری‌های ویروسی در گیاهان درمانی را پیدا کنند. بنابراین تلاش آنها بیشتر بر روی کشف راه‌هایی است که میزان انتقال این بیماری‌ها را کاهش دهند یا بذرهایی را پدید آورند که به این عوامل بیماری‌زا مقاوم‌تر باشند.

ویروئیدها و پریون‌ها: ساده‌ترین عوامل ایجاد کنندهٔ عفونت

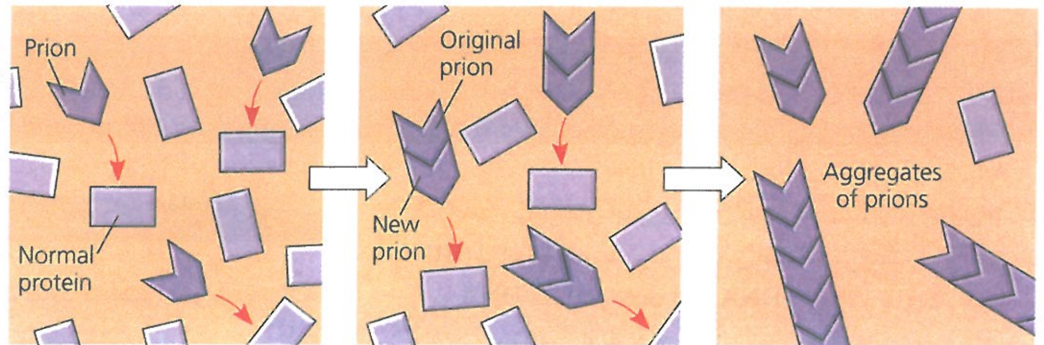
نوعی دیگر از پاتوژن‌ها که به کوچکی و سادگی ویروس‌ها هستند **ویروئیدها**[1] می‌باشند. اینها رشته‌های حلقوی از مولکول‌های RNA هستند و تنها چند صد نوکلئوتید دارند و گیاهان را آلوده می‌کنند. ویروئیدها نمی‌توانند پروتئین بسازند اما درون سلول‌های





شکل ۱۰-۱۹ عفونت‌های ویروسی در گیاهان. *عفونت ویروسی موجب بروز لکه‌های نامنظم قهوه‌ای بر روی گوجه فرنگی‌ها (سمت چپ)، لکه‌های مشکی بر روی کدو تنبل (وسط) و ایجاد رگه‌های رنگی نامنظم در لاله به‌واسطه‌ی پخش نامنظم دانه‌های حاوی رنگیزه (سمت راست) شده است.*

1- Viroids



شکل ۱۱-۱۹ مدلی از چگونگی تکثیر پریون‌ها. *پریون‌ها در اصل حالت تغییر شکل یافته‌ای از پروتئین‌های نرمال مغزی هستند. هنگامی‌که پریون‌ها به پروتئین سالمی برخورد می‌کنند، موجب تغییر شکل در آن می‌شوند. این روند تا آنجایی ادامه می‌یابد که تجمع پریون‌ها موجب اختلال در عملکرد سلول و در نهایت ایجاد تخریب در مغز می‌شوند.*

میزبان تکثیر می‌شوند، که ظاهراً از آنزیم‌های میزبان استفاده می‌کنند. به نظر می‌رسد که این RNAهای کوچک در سیستم تنظیم کننده‌ی رشد گیاهان اختلال ایجاد می‌کنند. نشانه‌ی بارز بیماری‌های ویروئیدی رشد غیر طبیعی و یا عقب ماندگی در رشد است. یک بیماری ویروئیدی به اسم کدنگ-کدنگ[1] بیش از ۱۰ میلیون درخت نارگیل را در فیلیپین از بین برد.

نکته‌ی آموزنده‌ی ویروئیدها این است که یک مولکول به تنهایی می‌تواند یک عامل عفونی باشد و موجب پخش بیماری شود. اما ویروئیدها اسیدهای نوکلئیک هستند و قابلیت تکثیر آنها به خوبی شناخته شده است. نکته‌ی جالب‌تر در مورد پروتئین‌های بیماری‌زاست که **پریون**[2] نام دارند. پریون‌ها عوامل بیماری‌زایی هستند که موجب ایجاد اختلالات مغزی در بعضی از حیوانات می‌شوند. این بیماری‌ها شامل: Scrapie در گوسفندان، جنون گاوی که صنعت دامداری را در سال‌های اخیر در اروپا به شدت تحت تأثیر قرار داده است؛ و بیماری Creutzfeldt-Jakeob در انسان‌ها که در طی دهه‌ی گذشته جان ۱۵۰ نفر را در انگلستان گرفته است می‌باشند. به نظر می‌رسد که پریون‌ها از طریق غذا انتقال پیدا می‌کنند زیرا افراد پس از خوردن گوشت‌هایی مربوط به گاوهایی که دارای جنون گاوی بودند دچار بیماری شده‌اند. Kuru بیماری دیگری در انسان‌هاست که به واسطه‌ی پریون‌ها ایجاد می‌شود و در اوایل سال‌های ۱۹۰۰ در بومیان South Fore در گینه‌ی نو ظاهر شد. اوج اپیدمی بیماری Kuru در سال‌های ۱۹۶۰ موجب سردرگمی دانشمندان شد چون فکر می‌کردند این بیماری منشأ ژنتیکی دارد. کم کم سایر تحقیقات آنتروپولوژیکال نشان داد که این بیماری چگونه گسترش می‌یابد. آدم‌خواری آیینی، عمل شایعی که میان بومیان South Fore رواج داشت، عامل گسترش آن بود.

دو مشخصه در پریون‌ها بسیار اهمیت دارد. یک اینکه پریون‌ها بسیار آرام عمل می‌کنند و دوره‌ی کمون آنها حداقل ۱۰ سال است. همین دورهٔ کمون طولانی موجب شده تا عامل عفونت تا مدت‌ها قبل از ظهور اولین نشانه‌های بیماری ظاهر نگردد و این خود موجب می‌شود تا پریون‌ها فرصت زیادی برای گسترش بیابند. دوم اینکه پریون‌ها عملاً نابودی‌ناپذیر هستند؛ آنها توسط حرارت حاصل از گرمایی که برای پخت و پز به‌کار برده می‌شود، غیر فعال نمی‌شوند. تا به امروز هیچ درمانی برای بیماری‌های پریونی پیدا نشده است و امیدها برای پیدا کردن راه‌حل درمانی به تشخیص نحوهٔ ایجاد عفونت در آنها وابسته است.

چگونه یک پروتئین که قابلیت تکثیر ندارد می‌تواند یک عامل عفونی قابل انتقال باشد؟ براساس یک مدل، پریون نوع تغییر شکل یافته‌ای از پروتئینی است که به‌طور طبیعی در سلول‌های مغزی یافت می‌شوند. هنگامی‌که پریون وارد سلولی می‌شود که حاوی این پروتئین است به گونه‌ای باعث می‌شود که شکل پروتئین سالم نیز به‌هم بخورد. سپس چندین پریون با هم جمع می‌شوند و مجموعه‌ای را تشکیل می‌دهند که سایر پروتئین‌های عادی را به پریون تبدیل می‌کنند که به زنجیره متصل می‌شوند **(شکل ۱۱-۱۹)**. تجمع پریون‌ها در روند طبیعی سلول اختلال ایجاد می‌کند و موجب بروز علائم بیماری می‌گردد. این مدل زمانی‌که در سال ۱۹۸۰ توسط استنلی پروزینر[3] ارائه شد خیلی مقبول نبود، اما اکنون بسیار مورد قبول است. پروزینر در سال ۱۹۹۷ به علت کارهایش بر روی پریون‌ها جایزهٔ نوبل را دریافت کرد.

پرسش‌های مبحث ۳-۱۹

۱. دو راه تبدیل یک ویروس به ویروس نوظهور را بیان کنید.

۲. انتقال عمودی و افقی را در عفونت‌های ویروسی گیاهان با هم مقایسه کنید.

۳. چه می‌شد اگر؟ TMV تقریباً در تمامی محصولات حاصل از تنباکو وجود دارد. پس چرا عفونت TMV سیگاری‌ها را تهدید نمی‌کند؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Codang - codang
2- Prion
3- Stanley Prusiner

19 مرور فصل

خلاصهٔ مفاهیم کلیدی

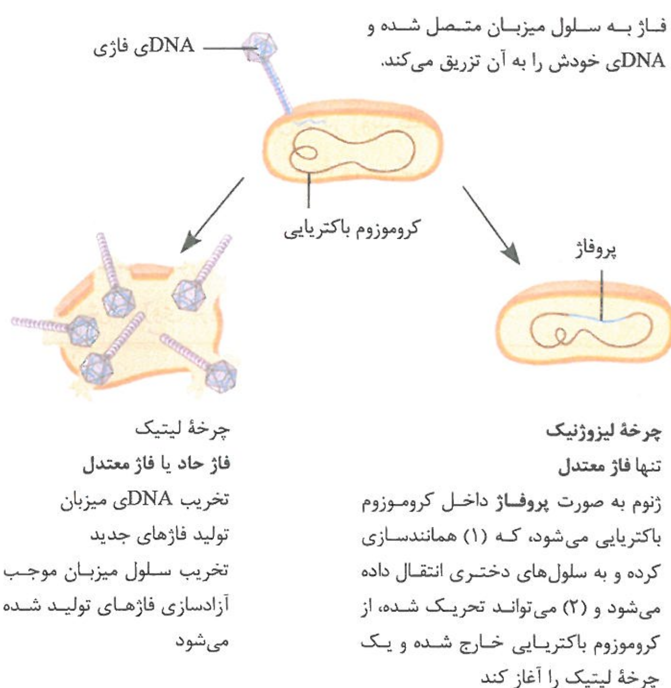
۱-۱۹ هر ویروس از یک نوکلئیک اسید تشکیل می‌شود که توسط یک پوشش پروتئینی احاطه شده است

- پژوهشگران ویروس‌ها را در اواخر دههٔ ۱۸۰۰ از طریق بررسی بیماری‌های گیاهی – موزاییک تنباکو – کشف کردند.
- **ویروس** یک ژنوم کوچک از جنس نوکلئیک اسید دارد که توسط **کپسیدی** پروتئینی پوشیده شده و در برخی موارد یک **پوشش ویروسی** از جنس غشا آن را فرا می‌گیرد که موجب تسهیل ورود ویروس به سلول میزبان می‌شود. ژنوم می‌تواند DNA یا RNAی دو یا یک رشته‌ای باشد.

> **؟** در حالت کلی آیا ویروس‌ها موجودات زنده محسوب می‌شوند یا غیر زنده؟ توضیح دهید.

۲-۱۹ ویروس‌ها فقط در سلول‌های میزبان تولیدمثل می‌کنند

- ویروس‌ها برای تولیدمثل از آنزیم‌ها، ریبوزوم‌ها و مولکول‌های کوچک سلول میزبان خود استفاده می‌کنند. هر نوع ویروس **طیف میزبانی** خاص خود را دارد.
- **فاژها** (ویروس‌هایی که باکتری‌ها را آلوده می‌کنند) می‌توانند از دو طریق تولیدمثل کنند: **چرخهٔ لیتیک** و **چرخهٔ لیزوژنیک**.



چرخهٔ لیزوژنیک
تنها فاژ معتدل
ژنوم به صورت **پروفاژ** داخل کروموزوم باکتریایی می‌شود، که (۱) همانندسازی کرده و به سلول‌های دختری انتقال داده می‌شود و (۲) می‌تواند تحریک شده، از کروموزوم باکتریایی خارج شده و یک چرخهٔ لیتیک را آغاز کند

چرخهٔ لیتیک
فاژ حاد یا فاژ معتدل
تخریب DNAی میزبان
تولید فاژهای جدید
تخریب سلول میزبان موجب آزادسازی فاژهای تولید شده می‌شود

- اغلب ویروس‌های جانوری دارای پوشش هستند. **رتروویروس‌ها** (مثل HIV) از **آنزیم رونوشت‌بردار معکوس** استفاده می‌کنند و RNAی خود را به DNA تبدیل می‌کنند. این DNA می‌تواند با ژنوم میزبان به صورت **پرو ویروس** ادغام شود.
- از آنجایی‌که ویروس‌ها تنها در سلول میزبان خود توانایی تولیدمثل را دارند احتمالاً پس از پیدایش اولین سلول‌ها شروع به تکامل کردند و شاید از شکسته شدن نوکلئیک اسید سلول‌ها به‌وجود آمده باشند. برروی منشا ویروس‌ها هنوز بحث وجود دارد.

> **؟** آنزیم‌هایی را شرح دهید که در اغلب سلول‌ها یافت نمی‌شوند، اما برای همانندسازی بعضی از ویروس‌ها ضروری هستند.

۳-۱۹ ویروس‌ها، ویروئیدها و پریون‌ها بیماری‌زاهای خطرناکی برای جانوران و گیاهان هستند

- علائم بیماری ویروسی می‌تواند حاصل آسیب مستقیم ویروس به سلول‌ها و یا نتیجهٔ پاسخ سیستم ایمنی به آن باشد. واکسن‌ها با تحریک سیستم ایمنی موجب می‌شوند تا میزبان مقابل ویروس خاص ایمن باشد.
- همه‌گیری‌های جدید بیماری‌های ویروسی در انسان‌ها معمولاً به‌وسیله ویروس‌هایی ایجاد می‌شود که دامنهٔ میزبان‌های خود را افزایش داده‌اند. ویروس آنفلوانزای H۱N۱ سال ۲۰۰۹، ترکیب جدیدی از ژن‌های ویروس‌های مرغی، انسانی و خوکی بود که یک پاندمی ایجاد کرد. ویروس آنفلوانزای مرغی H۵N۱ به‌شدت تحت کنترل است زیرا پتانسیل ایجاد پاندمی شدیدی از آنفلوانزا را دارد.
- ویروس‌ها یا از طریق قسمت‌های تخریب شدهٔ دیوارهٔ سلولی وارد سلول‌های گیاهی می‌شوند (انتقال عرضی) و یا از والدین آنها به فرزندانشان به ارث می‌رسند (انتقال عمودی).
- ساده‌ترین عوامل عفونت‌زا یعنی **ویروئیدها**، مولکول‌های RNAی عریانی هستند که گیاهان را آلوده کرده و موجب اختلال در رشد آنها می‌شوند. **پریون‌ها** عوامل کند اثر هستند که به‌طور بالقوه غیر قابل تخریب می‌باشند و موجب بیماری‌های مغزی در پستانداران می‌گردند.

> **؟** چه چیزی باعث می‌شود که یک ویروس RNAدار نسبت به یک ویروس DNAدار با احتمال بیشتری به یک ویروس نوظهور تبدیل شود؟

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چندگزینه‌ای ۱ تا ۵ پاسخ دهید.*

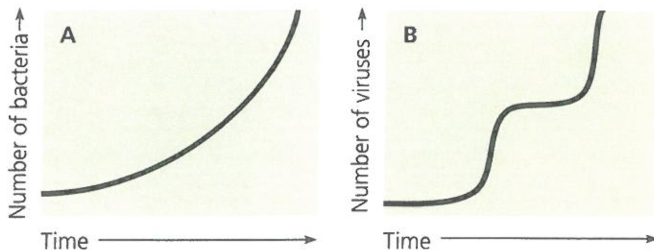
۶- رسم کنید شکل ۷-۱۹ را مجدداً رسم کنید و چرخهٔ تولیدمثلی یک ویروس با ژنوم تک رشته‌ای را که به‌عنوان mRNA عمل می‌کند در آن نشان دهید (ویروس کلاس IV).

۷- ارتباط تکاملی

موفقیت برخی از ویروس‌ها وابسته به قدرت آنها در ادغام سریع با سلول میزبان است. این ویروس‌ها دفاع میزبان را از طریق جهش‌های متوالی و تولید ویروس‌های گوناگون مختل می‌کنند و سیستم ایمنی نمی‌تواند به آنها حمله کند. بنابراین ویروسی که در ابتدای بیماری وجود داشته با آنچه در پایان بیماری یافت می‌شود متفاوت است. در مورد این مثال از تکامل بحث کنید.

۸- تحقیق علمی

هنگامی که باکتری جانوری را آلوده می‌کند تعداد باکتری‌ها به‌صورت تصاعدی زیاد می‌شود (نمودار A). پس از آلوده شدن توسط یک ویروس جانوری که دارای چرخهٔ لیتیک است تا مدتی اثری از عفونت نیست. سپس تعداد ویروس‌ها ناگهان به‌صورت پلکانی افزایش می‌یابد (نمودار B). تفاوت‌های این نمودارها را شرح دهید.

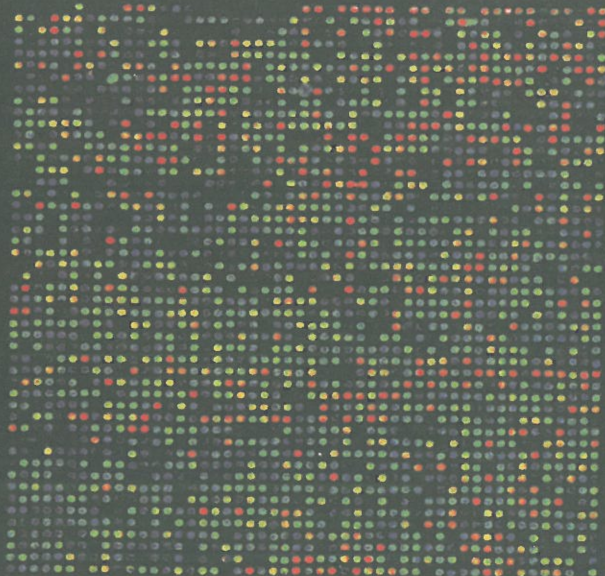


۹- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

ساختار و عملکرد اگرچه اغلب دانشمندان، ویروس‌ها را به عنوان موجودات غیر زنده در نظر می‌گیرند، اما ویروس‌ها برخی از ویژگی‌های حیات را از خود نشان می‌دهند (از جمله ارتباط ساختار و عملکرد). در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ لغت)، بحث کنید که چگونه ساختار یک ویروس با عملکرد آن مرتبط است.

20

فن‌آوری زیستی



شکل ۱- ۲۰ چگونه این الگوی نقطه‌ها می‌تواند برای مقایسهٔ بافت‌های طبیعی و سرطانی مورد استفاده قرار گیرد؟

مفاهیم کلیدی

۱- ۲۰ کلون کردن DNA تولید چندین نسخه از یک ژن یا قطعه‌ای از DNA را م • یسر می‌سازد

۲- ۲۰ فن‌آوری DNA به ما اجازه می‌دهد تا توالی، بیان و عملکرد یک ژن خاص را مطالعه کنیم

۳- ۲۰ کلون کردن موجودات زنده ممکن است منجر به تولید سلول‌های بنیادی برای تحقیقات و کاربردهای دیگر شود

٤- ۲۰ کاربردهای عملی فن‌آوری DNA به شیوه‌های بسیاری زندگی ما را متأثر می‌سازد

نگاه کلی

جعبه‌ابزار DNA

در سال ۲۰۰۱، خبر گذر از مرحلهٔ بسیار مهم علمی داده شد: محققان «اولین پیش‌نویس» توالی تمامی سه میلیارد جفت باز ژنوم انسان، به عنوان چهارمین یوکاریوتی که ژنوم آن توالی‌یابی شده است، را تکمیل کردند. این خبر جوامع علمی را به هیجان آورد. عدهٔ کمی در این میان به خود جرأت دادند که به توالی‌یابی ژنوم بیش از ۷۰۰۰ گونه، در عرض فقط نه سال آینده، فکر کنند. تا سال ۲۰۱۰، محققان توالی بیش از هزار گونهٔ باکتریایی، ۸۰ گونهٔ آرکی‌باکترها و ژنوم ۱۰۰یوکاریوت را به‌طور کامل تعیین کرده و تعداد بسیار بیشتری نیز در دست اجرا داشته‌اند.

این موفقیت‌ها را می‌توان به پیشرفت در فن‌آوری DNA نسبت داد. این فن‌آوری شامل روش‌های کار کردن روی DNA و دست‌کاری آن می‌باشد که در دههٔ ۱۹۷۰ پایه‌گذاری شده بود. یک اقدام کلیدی، کشف روش‌های ساخت **DNA نوترکیب**[1] بود. DNA نوترکیب، DNAای است که توالی نوکلئوتیدی آن از پیوند دو منبع مختلف (اغلب از گونه‌های مختلف) در آزمایشگاه با یکدیگر حاصل می‌شود. این دست‌آورد، زمینه را برای پیشرفت‌های بعدی در روش‌های قدرتمند آنالیز و بیان ژن‌ها آماده کرد. چگونگی ساخت DNA نوترکیب و استفاده از فن‌آوری DNA برای پاسخ‌گویی به سؤالات اساسی زیستی یکی از مسائل مورد بررسی در این فصل هستند. در فصل بعدی (فصل ۲۱)، نشان خواهیم داد که این روش‌ها چگونه امکان تعیین توالی همهٔ ژنوم‌ها را می‌دهند و بیان خواهیم کرد که چگونه از این توالی‌ها دربارهٔ فرایند تکامل و دربارهٔ خود ژنوم آموخته‌ایم.

یکی از مسائل دیگری که در این فصل به آن می‌پردازیم، چگونگی تأثیر پذیرفتن زندگی ما از **فن‌آوری زیستی** است، فن‌آوری که مربوط به دست‌کاری موجودات زنده یا اجزای آنها برای ساخت محصولات سودمند می‌باشد. فن‌آوری زیستی تاریخچه‌ای بسیار قدیمی دارد، مثل آزمایش‌هایی که برای اصلاح نژاد دام‌ها و استفاده از میکروب‌ها برای ساخت شراب و پنیر انجام می‌شده است. امروزه، فن‌آوری زیستی شامل «**مهندسی ژنتیک**[2]» هم می‌باشد، علمی که به دست‌کاری مستقیم ژن‌ها برای اهداف علمی می‌پردازد. مهندسی ژنتیک انقلابی بزرگ در فن‌آوری زیستی ایجاد کرده و کاربردهای بالقوهٔ آن را به مقدار زیادی گسترش داده است. ابزارهای مربوط به این جعبه‌ابزار DNA، امروزه در کارهای مختلفی استفاده می‌شوند و

1- Recombinant DNA
2- Genetic engineering

همه چیز را از کشاورزی تا قوانین جنایی و تحقیقات پزشکی تحت تأثیر قرار داده‌اند. برای مثال در زمینهٔ فن‌آوری ریزآرایه DNA[1] که در **شکل ۱-۲۰** نشان داده شده است، نقاط رنگی، سطح نسبی بیان ۲۴۰۰ ژن انسانی را نشان می‌دهند. با استفاده از آنالیز ریزآرایه، محققان می‌توانند به‌سرعت بیان ژن در نمونه‌های مختلف، مانند نمونه‌های به‌دست آمده از بافت‌های طبیعی و سرطانی را با هم مقایسه کنند. اطلاعاتی که از چنین مطالعاتی به‌دست می‌آید کمک شایانی به تحقیقات در زمینهٔ سرطان و سایر بیماری‌ها کرده است.

در این فصل، ابتدا روش‌های اساسی برای دستکاری DNA و آنالیز بیان و عملکرد ژن را توضیح خواهیم داد. سپس پیشرفت‌های دیگر در زمینهٔ کلون کردن موجودات زنده و تولید سلول‌های بنیادی را بررسی خواهیم کرد، روش‌هایی که هر دو، دانسته‌های پایه‌ای ما را از زیست‌شناسی گسترش دادند و به ما این امکان را بخشیدند تا دانسته‌هایمان را برای حل مشکلات جهانی به‌کار ببریم. در انتهای فصل به بررسی کاربردهای فن‌آوری DNA می‌پردازیم و با اشاره به بسیاری از مسائل اخلاقی و اجتماعی که با فراگیر شدن فن‌آوری DNA در زندگی ما بروز خواهد کرد، فصل را به پایان می‌بریم.

۱-۲۰ کلون کردن DNA[2] تولید چندین نسخه از یک ژن یا قطعه‌ای از DNA را میسر می‌سازد

زیست‌شناسان مولکولی که در حال مطالعه برروی هر ژن خاص هستند همواره با یک چالش روبه‌رو بوده‌اند. مولکول‌های DNA طبیعی، بسیار بزرگ بوده و معمولاً ژن‌های زیادی را حمل می‌کنند. علاوه براین، ژن‌ها تنها بخش کوچکی از DNA کروموزومی را اشغال کرده و باقی‌ماندهٔ DNA را توالی‌های غیررمزکننده تشکیل می‌دهند. به‌طور مثال، یک ژن منفرد انسانی تنها $\frac{۱}{۱۰۰۰۰۰}$ از DNA کروموزومی را تشکیل می‌دهد. مسألهٔ پیچیده‌تر اینکه تمایز بین ژن و توالی‌های اطراف آن که تنها در توالی نوکلئوتیدی اختلاف دارند، مشکل می‌باشد. دانشمندان برای اینکه به‌طور مستقیم با ژن‌های خاص کار کنند، شیوه‌های نوینی را برای تولید قطعاتی از DNA با اندازهٔ معین، در چندین نسخه یکسان ایجاد کرده‌اند که *کلون کردن DNA* نامیده می‌شود.

کلون کردن DNA و کاربردهای آن: مروری کلی

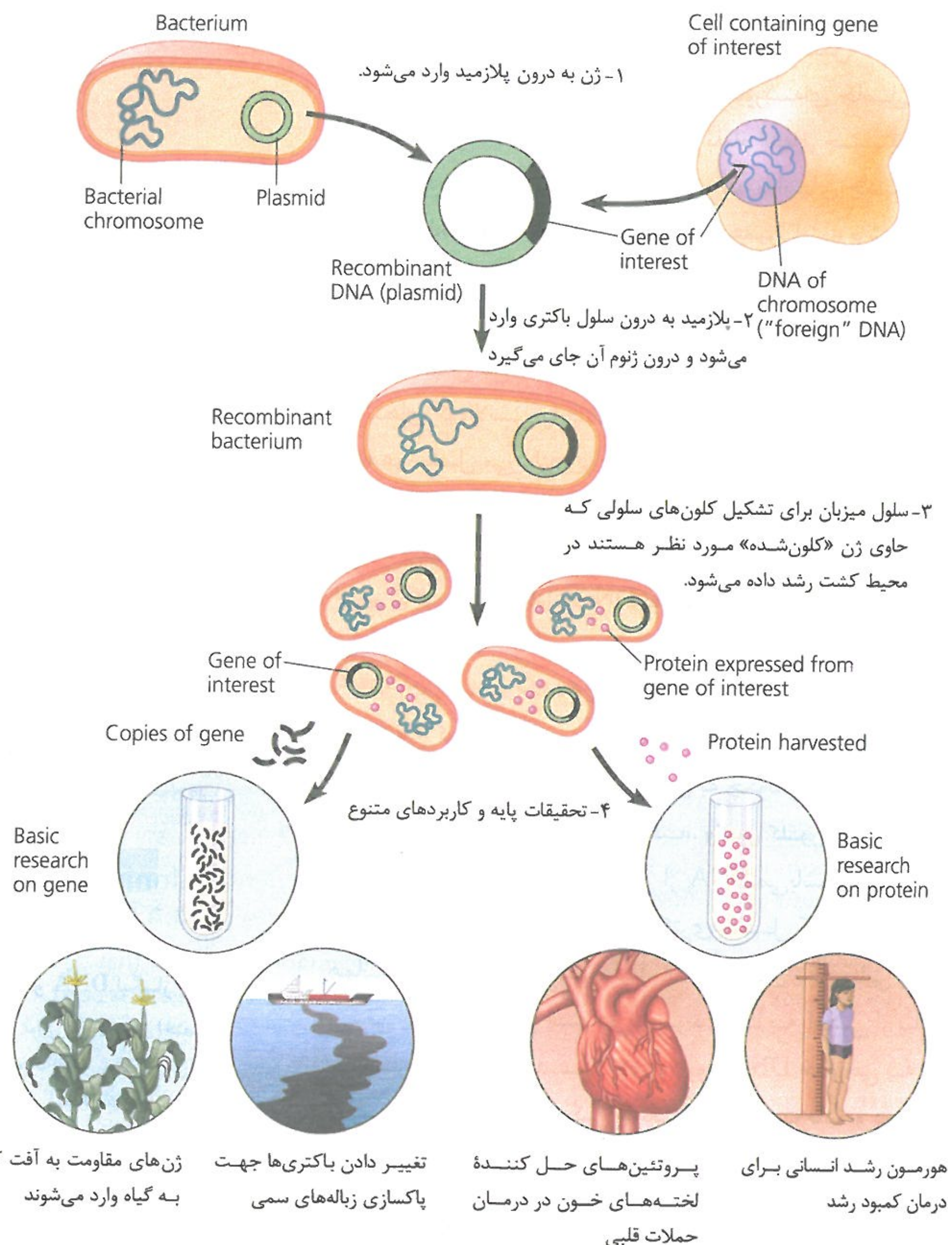
بیش‌تر روش‌های کلون کردن قطعات DNA در آزمایشگاه ویژگی‌های عمومی مشترکی دارند. یک راهکار متداول، استفاده از باکتری‌ها و اغلب باکتری «اشریشیا کُلای[3]» است. از فصل ۱۶ به یاد بیاورید که کروموزوم، *E. coli* یک مولکول DNA حلقوی بزرگ می‌باشد. به‌علاوه *E. coli* و بسیاری از باکتری‌های دیگر **پلازمید** دارند. پلازمید یک مولکول DNA حلقوی کوچک است که مستقل از کروموزوم باکتریایی همانندسازی می‌کند. یک پلازمید فقط تعداد کمی ژن دارد. این ژن‌ها ممکن است زمانی‌که باکتری در محیط خاصی قرار می‌گیرد، مورد استفاده قرار بگیرند ولی در بیشتر شرایط برای زنده ماندن یا تولیدمثل مورد نیاز نیستند.

برای کلون کردن قطعات DNA در آزمایشگاه، ابتدا پلازمید از باکتری استخراج شده و سپس DNA خارجی به درون پلازمید وارد می‌شود (**شکل ۲-۲۰**). پلازمید حاصل از این عمل اکنون یک مولکول DNA نوترکیب است که از ترکیب DNA حاصل از دو منشاء مختلف تشکیل شده است. این پلازمید نوترکیب به سلول باکتری وارد می‌شود و حاصل آن یک *باکتری نوترکیب* است. این باکتری نوترکیب تکثیر شده و یک کلون[4] از باکتری‌های همسان تولید می‌کند. به‌دلیل آنکه باکتری‌های درحال تکثیر، پلازمید نوترکیب را همانندسازی کرده و آن را به نسل‌های بعدی خود نیز انتقال می‌دهند، ژن خارجی نیز کلون شده و به‌عبارتی «کلون» می‌شود. تولید نسخه‌های زیاد از یک ژن منفرد، **کلون کردن ژن** نامیده می‌شود.

کلون کردن ژن برای دو هدف اساسی سودمند است: ایجاد نسخه‌های متعدد از یک ژن خاص و تولید یک محصول پروتئینی. دانشمندان می‌توانند نسخه‌های ژن کلون شده را از باکتری استخراج نموده و برای مصارف تحقیقات پایه یا اعطای یک توانایی متابولیک جدید به یک جاندار، به‌کار گیرند. به‌عنوان مثال، ژن مقاومت به آفات در یک گونه گیاه زراعی می‌تواند کلون شده و به گیاهان گونهٔ دیگر انتقال داده شود. به‌علاوه، پروتئینی با مصارف پزشکی، همچون هورمون رشد را می‌توان به میزان زیاد از کشت باکتری‌های حامل آن ژن استخراج نمود.

اغلب ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین به میزان تنها یک نسخه در هر ژنوم وجود دارند (چیزی در حدود یک میلیونیوم DNA ژنومی) بنابراین کلون کردن چنین قطعاتی، بسیار با ارزش به‌نظر می‌رسد.

1- DNA microarray
2- DNA cloning
3- *Escherichia coli*
4- Clone



◄ **شکل ۲-۲۰ مروری بر کلون کردن ژن به‌وسیلهٔ پلاسمید باکتریایی و کاربردهای مختلف ژن کلون شده.**
در این طرح ساده شده از کلون کردن ژن در آزمایشگاه، شروع کار با پلاسمید استخراج شده از باکتری و ژن دلخواه از جاندار دیگر را نشان داده‌ایم. تنها یک نسخه از پلاسمید و یک نسخه از ژن دلخواه در بالای تصویر نشان داده شده، اما در عمل برای شروع کار، نسخه‌های بسیار زیادی از هر قطعه استفاده می‌شود.

محدودکننده[1] یا **آنزیم‌های محدودکننده**[2] نامیده می‌شوند در اواخر دههٔ ۶۰ توسط محققانی کشف شدند که مشغول مطالعه برروی باکتری‌ها بودند. همان‌طور که در فصل ۱۹ آموختید، آنزیم‌های محدودکننده از باکتری‌ها در مقابل DNA مهاجم دیگر موجودات یا فاژها محافظت می‌کنند.

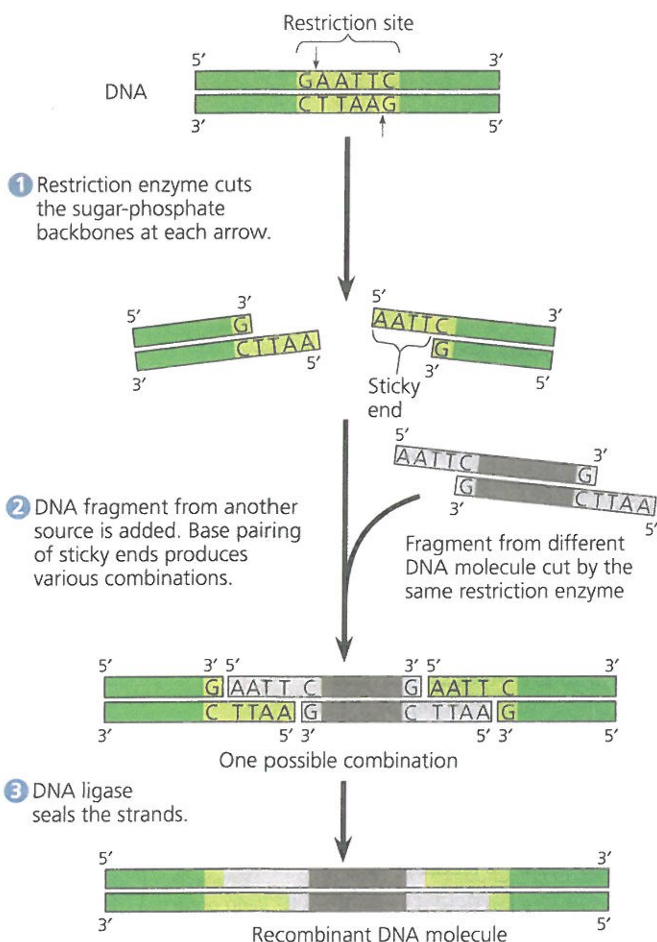
تاکنون صدها آنزیم محدودکنندهٔ مختلف شناسایی و جداسازی شده است. هر آنزیم محدودکننده به‌طور بسیار اختصاصی، یک توالی کوتاه خاص یا **جایگاه برش**[3] را تشخیص و هر دو رشتهٔ DNA در درون این جایگاه را برش می‌دهد. DNA مربوط به خود باکتری نیز با افزودن گروه‌های متیل ($-CH_3$) به بازهای آدنین و سیتوزین درون توالی‌هایی جایگاه برش محافظت می‌گردد.

قسمت بالای **شکل ۳-۲۰** یک جایگاه برش که به‌وسیلهٔ آنزیم محدودکنندهٔ خاصی از *E. coli* شناسایی می‌شود را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در این مثال نمایش داده شده، اغلب جایگاه‌های برش متقارن هستند. یعنی توالی نوکلئوتیدی هر دو رشته وقتی در جهت $5'$ به $3'$ خوانده شوند، یکسان هستند. بیشترآنزیم‌های محدودکننده توالی‌های چهار تا هشت نوکلئوتیدی را شناسایی می‌کنند. به‌دلیل آنکه توالی با این اندازه کوچک معمولاً (به‌طور تصادفی) بارها در یک مولکول DNA یافت می‌شود، یک آنزیم محدودکننده، برش‌های زیادی در مولکول

استفاده از آنزیم‌های محدودکننده برای ساخت DNA نوترکیب

با کشف آنزیم‌هایی که مولکول DNA را در تعداد محدودی از جایگاه‌های خاص برش می‌دادند، کلون کردن ژن و مهندسی ژنتیک امکان‌پذیر گردید. این آنزیم‌ها که اندونوکلئازهای

1- Restriction endonucleases
2- Restriction enzymes
3- Restriction site



◀ **شکل ۳- ۲۰ استفاده از آنزیم محدودکننده و DNA لیگاز برای ایجاد DNA نوترکیب.** *در این مثال، آنزیم EcoRI یک توالی ۶ جفت‌بازی اختصاصی را (جایگاه برش) تشخیص داده و در اسکلت قند ـ فسفات موجود در این توالی برش زده و قطعاتی با انتهاهای چسبنده تولید می‌کند. قطعات با انتهای چسبندهٔ مکمل می‌توانند جفت باز تشکیل داده و اگر این قطعات از مولکول‌های DNA مختلفی باشند، محصول DNA نوترکیب خواهد بود.*

رسم کنید *آنزیم محدودکنندهٔ HindIII توالی ′۵ -AAGCTT-′۳ را تشخیص می‌دهد و محل برش آن بین دو A می‌باشد. توالی دورشته‌ای را قبل و بعد از برش آنزیمی رسم کنید.*

DNA ایجاد کرده و یک مجموعه از **قطعات محدودکننده**[1] مختلف ایجاد می‌کند. همهٔ نسخه‌های مربوط به یک DNA خاص هنگامی که در معرض یک آنزیم محدودکننده قرار بگیرند، مجموعهٔ یکسانی از قطعات محدودکننده به‌وجود می‌آورند. به‌عبارت دیگر، آنزیم محدودکننده مولکول DNA را تنها در یک الگوی خاص برش می‌دهد (در ادامه نحوهٔ جداسازی قطعات مختلف برش‌یافته را خواهید آموخت).

1- Restriction fragments

سودمندترین آنزیم‌های محدودکننده، اسکلت فسفات ـ قند موجود در دو رشتهٔ DNA را شکافته و همانند شکل ۳-۲۰ انتهای ناصاف ایجاد می‌کنند. قطعات برش‌یافتهٔ دورشته‌ای حاصل از عمل آنزیم، حداقل یک انتهای تک‌رشته‌ای به‌نام **انتهای چسبنده**[2] دارند. این امتدادهای تک‌رشته‌ای کوتاه می‌توانند با انتهای چسبندهٔ مکمل برروی مولکول‌های DNA دیگری که با همین آنزیم برش یافته‌اند، پیوند هیدروژنی تشکیل داده و جفت شوند. چنین پیوندی موقتی می‌باشد ولی با استفاده از آنزیم **DNA لیگاز**[3]، اتصال دائم برقرار می‌شود. همان‌طور که در فصل ۱۶ آموختید، این آنزیم تشکیل پیوندهای کووالانسی را کاتالیز می‌کند و اسکلت‌های قند ـ فسفات را به‌هم متصل می‌سازد، برای مثال، قطعات اُکازاکی[4] را در طول همانندسازی به‌هم متصل می‌کند. همان‌گونه که در پایین شکل ۳-۲۰ مشاهده می‌کنید، اتصال DNA از دو منشأ مختلف به‌وسیلهٔ آنزیم لیگاز، یک مولکول DNA نوترکیب پایدار را به‌وجود می‌آورد.

کلون کردن یک ژن یوکاریوتی درون پلازمید باکتریایی

اکنون که دربارهٔ آنزیم‌های محدودکننده و DNA لیگاز مطالبی را آموخته‌اید، می‌توانیم نگاه دقیق‌تری به چگونگی کلون کردن ژن‌ها درون پلازمید بیندازیم. پلازمید اولیه، **وکتور کلون کردن**[5] نامیده می‌شود که بنا به تعریف، مولکولی از DNA می‌باشد که می‌تواند DNA خارجی را به درون باکتری حمل کرده و در آنجا همانندسازی کند. به چند دلیل پلازمیدهای باکتریایی به‌طور وسیعی به‌عنوان وکتور استفاده می‌شوند. آنها به‌راحتی از باکتری جداسازی شده، با دست‌ورزی و ورود DNA خارجی به درون پلازمید در آزمایشگاه، تشکیل مولکول نوترکیب داده و دوباره به سلول‌های باکتریایی وارد می‌شوند. علاوه براین، باکتری‌ها به علت سرعت تکثیر بالایی که دارند باعث تکثیر سریع پلازمیدها (و DNA بیگانه‌ای که حمل می‌کنند) می‌شوند.

تولید کلون‌های سلولیِ دارای پلازمیدهای نوترکیب

فرض کنیم محققانی هستیم که به مطالعهٔ ژن بتا ـ گلوبین در یک گونهٔ خاص از مرغ مگس علاقمندیم و می‌خواهیم تفاوت این پروتئین حمل‌کنندهٔ اکسیژن را با همتایش در گونه‌های با فعالیت متابولیک کمتر بررسی کنیم. **شکل ۴-۲۰** جزئیات یک روش برای کلون کردن ژن‌های مرغ مگس با استفاده از پلازمید باکتریایی به‌عنوان وکتور را نشان می‌دهد.

2- Sticky end
3- DNA ligase
4- Okazaki fragments
5- Cloning vector

(۱) نخست ما با جداسازی DNA ژنومی از سلول‌های مرغ مگس شروع می‌کنیم. همچنین وکتور منتخب خود را، که یک پلازمید باکتریایی خاص از سلول‌های *E. coli* است، جدا می‌کنیم. این پلازمید طوری مهندسی شده است تا دو ژن را که بعداً مورد استفاده خواهند بود، حمل کند. ژن amp^R که سلول‌های *E. coli* را به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین مقاوم می‌کند و ژن *lacZ* که آنزیمی به‌نام گالاکتوزیداز را کد می‌نماید. این آنزیم قند لاکتوز را هیدرولیز می‌کند. این آنزیم همچنین قادر است تا یک مولکول مصنوعی مشابه به‌نام X-gal را هیدرولیز کند و یک محصول آبی رنگ ایجاد نماید. پلازمید فقط یک کپی از جایگاه برش دارد که توسط آنزیم محدودکننده که در مرحلهٔ بعد مورد استفاده قرار می‌گیرد، شناسایی می‌شود. این جایگاه درون ژن *lacZ* قرار دارد.

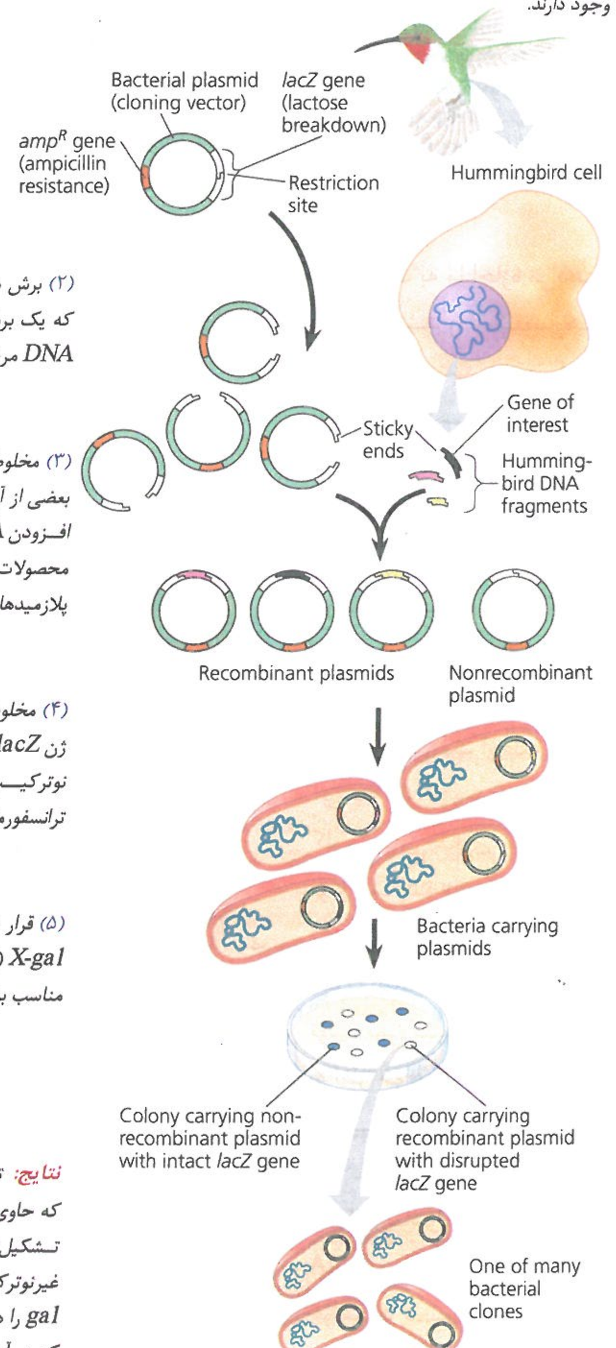
(۲) پلازمید و DNA مرغ مگس‌خوار، هر دو، توسط یک آنزیم محدودکننده بریده می‌شوند. (۳) سپس این قطعات با یکدیگر مخلوط شده و بین انتهاهای چسبندهٔ آنها پیوند برقرار می‌گردد. در مرحلهٔ بعد، DNA لیگاز را اضافه می‌کنیم. این آنزیم قطعاتی را که انتهاهای چسبنده‌شان باهم جفت شده است، به‌صورت کووالانسی به‌هم متصل می‌کند. بعضی از پلازمیدهای نوترکیب حاصل، حاوی قطعاتی از DNA مرغ مگس خواهند بود، مانند سه پلازمیدی که درشکل ۴-۲۰ نشان داده شده‌اند. یکی از این سه پلازمید وکتور ژن بتا ـ گلوبین است. این مرحله همچنین می‌تواند محصولات دیگری

شکل ۴-۲۰ **تحقیق**

کلون کردن ژن‌ها درون پلازمیدهای باکتریایی

کاربرد: *کلون کردن ژن فرایندی است که برای تولید نسخه‌های بسیار زیادی از یک ژن خاص به‌کار می‌رود. این نسخه‌ها می‌توانند برای تعیین توالی ژن رمزکنندهٔ پروتئین یا در تحقیقات پایه و یا موارد دیگر استفاده شوند.*

روش: *در این مثال، ژن‌های مرغ مگس به درون پلازمیدهایی از E. coli وارد می‌شوند. تنها سه پلازمید و سه قطعه DNAی مرغ مگس نشان داده شده‌اند، اما در نمونه‌ها، میلیون‌ها نسخه از پلازمید و مخلوطی از میلیون‌ها نسخه از قطعات DNAی مرغ مگس وجود دارند.*



(۱) جدا کردن DNA پلازمیدی از سلول‌های باکتریایی و استخراج DNA از سلول‌های مرغ مگس‌خوار. DNAی مرغ مگس‌خوار، حاوی ژن مورد نظر است.

(۲) برش هر دو نمونهٔ DNA با یک آنزیم محدودکننده که یک برش درون ژن lacZ و برش‌های زیادی درون DNA مرغ مگس ایجاد می‌کند.

(۳) مخلوط کردن پلازمیدها و قطعات DNA برش‌یافته. بعضی از آن‌ها با تشکیل جفت‌باز به هم متصل می‌شوند، و افزودن DNA لیگاز آن‌ها را به هم می‌چسباند. محصولات، شامل پلازمیدهای نوترکیب و تعداد زیادی پلازمیدهای غیر نوترکیب است.

(۴) مخلوط کردن DNA با سلول‌های باکتریایی که در ژن lacZ خود جهش یافته‌اند. برخی سلول‌ها پلازمید نوترکیب یا مولکول DNAی دیگر را از طریق ترانسفورماسیون جذب می‌کنند.

(۵) قرار دادن باکتری‌ها برروی آگار حاوی آمپی‌سیلین و X-gal (مولکولی شبیه لاکتوز). سپس آن‌ها را در محیط مناسب برای رشد و تشکیل کلونی قرار می‌دهند.

نتایج: *تنها سلولی که پلازمید را جذب کرده (پلازمیدی که حاوی ژن مقاومت به آمپی‌سیلین است)، تکثیر یافته و تشکیل کلونی خواهد داد. کلونی‌هایی که پلازمید غیرنوترکیب دارند آبی خواهند بود زیرا آن‌ها می‌توانند X-gal را هیدرولیز کنند. کلونی‌های دارای پلازمید نوترکیب که در آن‌ها ژن lacZ تخریب شده است، سفید خواهند بود زیرا آن‌ها نمی‌توانند X-gal را هیدرولیز کنند.*

چه می‌شد اگر؟ ***اگر محیط کشتی که در مرحله ۵ استفاده شده است، فاقد آمپی‌سیلین بود، آیا سایر کلونی‌ها رشد می‌کردند؟ این کلونی‌ها چه رنگی می‌شدند؟***

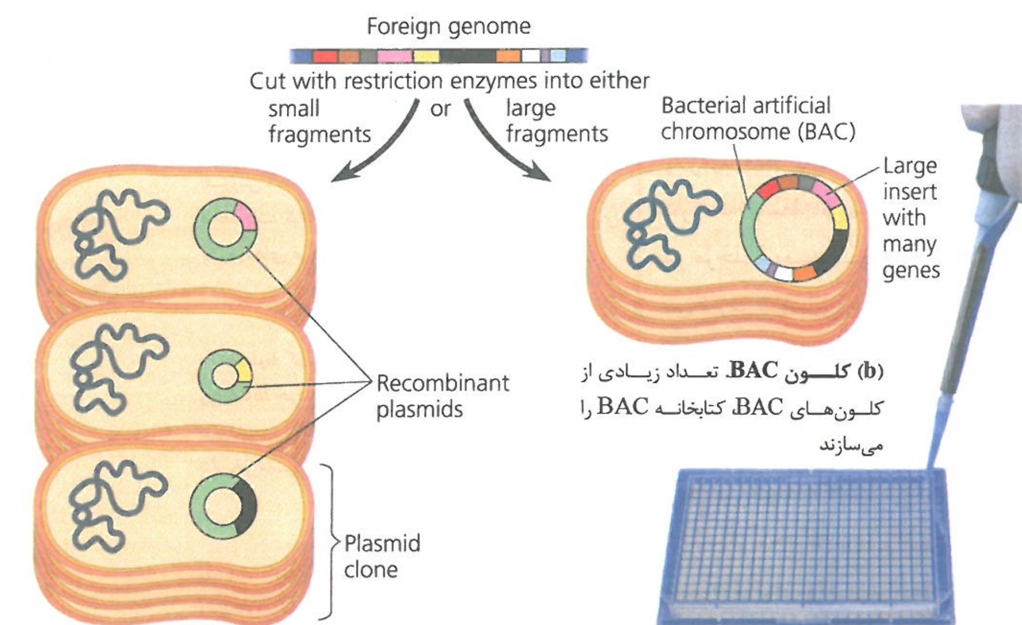
تولید کند: مانند پلازمیدهایی که حاوی قطعات مختلفی از DNA مرغ مگس هستند، یا ترکیبی از دو پلازمید، یا یک پلازمید حلقوی غیرنوترکیب.

(۴) سپس این مخلوط DNA به باکتری‌هایی که دارای یک جهش در ژن *lacZ* در کروموزوم خود هستند، اضافه می‌شود. این جهش باعث می‌شود تا این سلول‌ها نتوانند لاکتوز یا X-gal را هیدرولیز کنند. تحت شرایط آزمایشی مناسب، سلول‌ها DNA خارجی را از طریق ترانسفورماسیون[1] جذب می‌کنند. بعضی از سلول‌ها پلازمید نوترکیب را جذب می‌کنند، درحالی‌که بقیه ممکن است پلازمید غیرنوترکیب، قطعه‌ای از DNA غیررمزکنندهٔ مرغ مگس (یا اصلاً هیچ DNAای) را جذب کنند. ژن‌های amp^R و *lacZ* موجود در پلازمیدها به ما کمک می‌کنند تا این احتمالات را بررسی کنیم.

(۵) اول اینکه، کشت دادن تمام باکتری‌ها روی محیط مغذی جامد (آگار) حاوی آمپی‌سیلین به ما اجازه می‌دهد تا سلول‌هایی که پلازمید را دریافت کرده‌اند، چه نوترکیب و چه غیرنوترکیب، از سایر سلول‌ها تشخیص دهیم. تحت این شرایط فقط سلول‌های دارای پلازمید تکثیر می‌یابند. زیرا تنها این سلول‌ها هستند که حاوی ژن مقاومت به آمپی‌سیلین می‌باشند. هر باکتری درحال تکثیر یک کلون از سلول‌ها ایجاد می‌کند. زمانی‌که این کلون دارای 10^5 تا 10^8 سلول شود، به‌صورت یک توده یا یک *کلونی* روی آگار قابل مشاهده می‌گردد. در طول تکثیر سلول‌ها، تمام ژن‌های بیگانه‌ای که درون پلازمیدهای نوترکیب وجود دارند نیز کپی می‌شوند یا به عبارتی کلون می‌گردند.

دوم اینکه، وجود X-gal در محیط کشت به ما اجازه می‌دهد تا کلونی‌هایی که حاوی پلازمید نوترکیب هستند را از کلونی‌های دارای پلازمید غیرنوترکیب تشخیص دهیم. کلونی‌های دارای پلازمید غیرنوترکیب که ژن *lacZ* دست‌نخورده دارند، آنزیم بتا- گالاکتوزیداز فعال تولید می‌نمایند و X-gal موجود در محیط کشت را تجزیه می‌کنند. بنابراین یک محصول آبی‌رنگ ایجاد کرده و آبی به نظر می‌رسند. برعکس، کلونی‌های حاوی پلازمیدهای نوترکیب که ژن خارجی درون ژن *lacZ* آنها وارد شده است آنزیم بتا- گالاکتوزیداز فعال تولید نمی‌کنند و بنابراین سفید به نظر خواهند رسید.

این آزمایش علاوه بر ژن بتا - گلوبین مورد علاقهٔ ما، تعداد زیادی از دیگر قطعات DNA مرغ مگس را هم کلون خواهد کرد. در حقیقت، کلونی‌های سفیدرنگ تمام توالی‌های ژنوم مرغ مگس‌خوار، شامل مناطق غیررمزکننده و همچنین ژن‌ها را نشان می‌دهند و به خاطر اینکه



(a) کتابخانهٔ پلازمیدی. تصویر، سه تا از هزاران «کتاب» موجود در کتابخانهٔ پلازمیدی را نشان می‌دهد. هر «کتاب» یک کلون از سلول‌های باکتریایی است که حاوی نسخه‌هایی از قطعهٔ ژنومی خارجی خاص (قطعات با رنگ‌های مختلف) در پلازمید نوترکیب خود هستند

(b) کلون BAC. تعداد زیادی از کلون‌های BAC، کتابخانه BAC را می‌سازند

(c) نگه‌داری کتابخانه‌های ژنومی. کتابخانه‌های ژنومی BAC و پلازمیدی معمولاً در ظروف پلاستیکی چند قسمتی نگه‌داری می‌شوند. یک ظرف ۳۸۴ قسمتی در اینجا نشان داده شده است. هر کلون یک قسمت را اشغال می‌کند (کتابخانهٔ مربوط به یک ژنوم کامل به چندین ظرف احتیاج خواهد داشت.)

◀ **شکل ۵- ۲۰ کتابخانهٔ ژنومی.** *یک کتابخانهٔ ژنومی مجموعه‌ای از کلون‌های فاژ یا باکتری است که هریک شامل نسخه‌هایی از یک قطعه DNA خاص از ژنوم خارجی هستند. این DNA خارجی در یک وکتور مناسب مانند یک پلازمید یا کروموزوم مصنوعی باکتریایی (BAC) وارد می‌شود. در یک کتابخانهٔ ژنومی کامل، قطعات DNA خارجی، کل ژنوم یک جاندار را پوشش می‌دهند. توجه کنید که کروموزوم‌های باکتریایی در مقیاس درست رسم نشده‌اند. آن‌ها درواقع ۱۰۰۰ برابر بزرگ‌تر از حامل‌ها می‌باشند.*

1- Transformation

آنزیم‌های محدود کننده توانایی شناسایی مرزهای ژن را ندارند، برخی ژن‌ها بریده شده و در میان دو یا چندین کلون تقسیم خواهند شد. به‌طور مختصر، به موضوع روش یافتن کلونی (کلونی سلولی) یا کلونی‌هایی که حاوی توالی‌های ژن بتا-گلوبین در میان بسیاری از کلونی‌های دیگر که دارای دیگر نسخه‌های DNAی مرغ‌مگس‌خوار هستند خواهیم پرداخت. قبل از پاسخ‌گویی به این سؤال باید بررسی کنیم که کلون‌ها چگونه نگهداری می‌شوند.

ذخیره‌سازی ژن‌های کلون‌شده در کتابخانه‌های DNA

روش کلون کردن موجود در شکل ۴-۲۰ که با مخلوطی از قطعات مختلف مربوط به کل ژنوم جاندار آغاز می‌شود، روش «شات‌گان»[1] نامیده می‌شود. در این روش هیچ ژن خاصی هدف کلون کردن نمی‌باشد. هزاران پلازمید نوترکیب مختلف که در مرحلهٔ ۳ روش شات‌گان ایجاد شده است، در مرحلهٔ ۵ هرکدام به‌صورت کلونی‌های سفید ظاهر می‌شوند. به مجموعهٔ کامل کلون‌های حاوی پلازمید که هرکدام حامل نسخه‌هایی از قطعهٔ خاصی از ژنوم اولیه می‌باشند، **کتابخانهٔ ژنومی**[2] اطلاق می‌شود (**شکل ۵a-۲۰**). اغلب دانشمندان اینگونه کتابخانه‌ها (یا حتی ژن‌های کلون شدهٔ خاص) را از محققان دیگر، مراکز فروش یا یک مرکز توالی‌یابی دریافت می‌کنند.

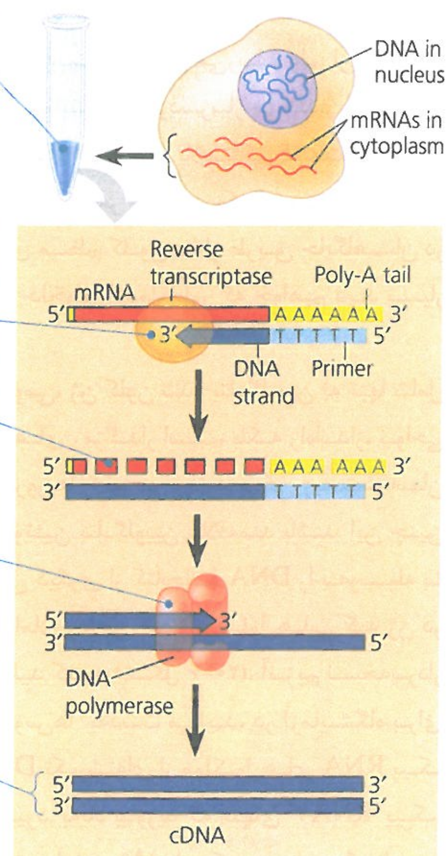
گونه‌های خاصی از باکتریوفاژها نیز به‌عنوان وکتور برای ایجاد کتابخانه‌های ژنومی به‌کار گرفته می‌شوند. با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده و DNA لیگاز قطعاتی از DNA بیگانه را می‌توان درون ژنوم فاژ وارد ساخت. مرحلهٔ آلوده‌سازی طبیعی اجازهٔ تولید اجزاء فاژی جدید بسیاری را می‌دهد که هرکدام از آنها DNAی بیگانهٔ وارد شده را با خود حمل می‌کنند. امروزه، تنها در موارد خاصی از فاژها برای ایجاد کتابخانه‌های ژنومی استفاده می‌شود.

نوع دیگری از وکتورها که برای ایجاد کتابخانه مورد استفاده قرار می‌گیرد، **کروموزوم مصنوعی باکتریایی (BAC)**[3] است. این حامل‌ها، با وجود نامی که دارند، پلازمیدهای سادهٔ بزرگی هستند که فقط حاوی ژن‌های ضروری برای همانندسازی می‌باشند. از آنجایی‌که یک پلازمید استاندارد توانایی حمل قطعات DNDی ورودی بلندتر از ده‌هزار جفت باز (10kb) را ندارد، یکی از دستاوردهای استفاده از BACها به‌عنوان وکتور، توانایی آنها در حمل قطعات DNAی وارد شده به طول ۳۰۰-۱۰۰ هزارباز (100-300kb) می‌باشد (**شکل ۵b-۲۰**). این اندازهٔ بسیار بزرگِ قطعهٔ ورودی به پلازمید، تعداد کلونی‌هایی را که برای ساخت کتابخانهٔ ژنومی مورد نیاز است به حداقل می‌رساند ولی از طرفی کار کردن با این قطعات در آزمایشگاه را دردسرساز می‌کند.

کلون‌های BAC معمولاً در ظروف پلاستیکی قسمت‌بندی‌شده نگهداری می‌شوند، به‌طوری‌که هر کلون در یک قسمت قرار می‌گیرد (**شکل ۵c-۲۰**). نگهداری منظم کلون‌ها از طریق جایگاهشان در ظرف، غربالگری هر ژن دلخواه را همان‌طور که خواهیم دید بسیار کارآمد می‌کند.

در یک کتابخانهٔ ژنومی، ژن کلون شدهٔ بتا-گلوبین نه تنها شامل اگزون‌های دارای توالی‌های رمزگذار است، بلکه راه‌انداز، نواحی رونویسی نشونده و اینترون‌ها را نیز در بردارد. برخی زیست‌شناسان ممکن است به خود پروتئین بتا-گلوبین علاقه‌مند باشند. این چنین محققانی می‌توانند نوعی دیگری از کتابخانهٔ DNA را به‌وسیله با استخراج mRNAی کاملاً پردازش شده از سلول‌هایی که ژن در آنها بیان شده است، تولید کنند (**شکل ۶-۲۰**). آنزیم نسخه‌بردار معکوس[4] که از رتروویروس‌ها[5] به‌دست می‌آید، در آزمایشگاه برای ساخت نسخه‌های DNA تک‌رشته‌ای از مولکول‌های RNA پیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌یاد بیاورید که انتهای $3'$ RNA پیک، زنجیره‌ای از ریبونوکلئوتید آدنین (A) دارد که دم پلی A- نامیده می‌شود. این موضوع امکان استفاده از یک رشتهٔ کوتاه دئوکسی‌ریبونوکلئوتید تیمین (dT) به‌عنوان پرایمر برای رونویسی معکوس را فراهم می‌آورد. بعد از تجزیهٔ آنزیمی RNA پیک، یک رشتهٔ ثانویهٔ DNA که مکمل با اولی است به‌وسیلهٔ DNA پلی‌مراز ساخته می‌شود. DNA دورشته‌ای حاصل، **DNA مکمل (cDNA)**[6] نامیده می‌شود. برای ایجاد کتابخانه، cDNA با افزودن جایگاه‌های برش آنزیم‌های محدودکننده به هر انتهای آن تغییر می‌یابد. در پایان، cDNA با روشی مشابه با ورود قطعات DNA ژنومی، وارد وکتور می‌شود. RNA پیک جدا شده از سلول مورد نظر، مخلوطی از تمام مولکول‌های RNA پیک می‌باشد که از ژن‌های متنوعی در سلول رونویسی شده است. بنابراین cDNA کلون شده یک کتابخانه ایجاد می‌کند که حاوی مجموعهٔ ژن‌ها می‌باشد. به هرحال، یک کتابخانهٔ DNA مکمل[7] تنها بخشی از ژنوم، یعنی گروهی از ژن‌هایی که در سلول مورد مطالعه رونویسی می‌شوند را عرضه می‌کند.

1- Shotgun
2- Genomic library
3- Bacterial artificial chromosome
4- Reverse transcriptase
5- Retroviruses
6- Complementary DNA
7- cDNA library



شکل ۶- ۲۰ ساخت DNA مکمل (cDNA) از ژن‌های یوکاریوتی. *DNA مکمل، DNAای است که در محیط آزمایشگاه با استفاده از mRNA به‌عنوان الگوی اولین رشته ساخته می‌شود. چون mRNA فقط اگزون‌ها را داراست، DNA مکمل دورشته‌ای حاصل، فقط حاوی توالی رمزگذار است و اینترون‌ها را ندارد. با وجود اینکه در اینجا فقط یک mRNA نشان داده شده است، مجموعهٔ نهایی، DNAهای مکمل تمام mRNAهایی است که در سلول موجود هستند.*

کتابخانه‌های ژنومی و DNA مکمل، هر یک بسته به نوع مطالعه، مزایای خاصی دارند. اگر می‌خواهید ژنی را کلون کنید اما مطمئن نیستید که در چه نوع سلولی بیان شده و یا آن نوع سلول را در اختیار ندارید، معمولاً کتابخانهٔ ژنومی برای دستیابی به این ژن مناسب است. همچنین اگر خواهان دستیابی به توالی‌های تنظیمی یا اینترون‌های همراه ژن باشید به کتابخانهٔ ژنومی نیاز دارید، زیرا این توالی‌ها از RNA پیک پردازش‌شده حذف گردیده و در کتابخانهٔ DNA مکمل وجود ندارند. با این وجود، اگر تنها خواهان توالی رمزکنندهٔ ژن هستید می‌توانید قسمت اصلی ژن را از کتابخانهٔ DNA مکمل به‌دست آورید. در مثال مربوط به پروتئین بتا-گلوبین مرغ مگس هم، کتابخانهٔ DNA مکمل مناسب خواهد بود. ما می‌دانیم که چه سلول‌هایی ژن را بیان می‌کنند، بنابراین می‌توانیم با جداسازی RNA پیک از گلبول‌های قرمز مرغ مگس‌خوار، کتابخانه را ایجاد کنیم. همچنین کتابخانهٔ DNA مکمل برای مطالعهٔ ژن‌های مسئول فعالیت‌های خاص در سلول‌های ویژه‌ای همچون سلول‌های مغزی و کبدی مفید می‌باشد. در پایان، اینکه می‌توان تغییرات الگوی بیان ژن را در حین تکوین تشخیص داد. این‌کار از طریق ساخت DNA مکمل از یک نوع سلول در زمان‌های مختلفی از زندگی یک جاندار انجام می‌شود.

جستجوی یک کتابخانه برای کلون‌های حاوی یک ژن مورد نظر

حال به نتایج شکل ۴-۲۰ برمی‌گردیم و آماده‌ایم تا تمام کلونی‌های دارای پلازمید نوترکیب (کلونی‌های سفیدرنگ) را برای یافتن یک کلونی از سلول‌هایی که حاوی ژن بتا ـ گلوبین مرغ مگس باشد، جستجو کنیم. DNAی این ژن می‌تواند با توالی مکملی از یک نوکلئیک اسید دیگر جفت شود، روشی که به آن **دورگه‌سازی نوکلئیک اسید**[1] گفته می‌شود و از طریق آن می‌توان ژن مورد نظر را شناسایی کرد. مولکول مکمل، یک نوکلئیک‌اسید کوتاه و تک‌رشته‌ای است که می‌تواند از نوع DNA یا RNA باشد و **کاوشگر نوکلئیک اسیدی**[2] نامیده می‌شود. اگر حداقل توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن دلخواه را بدانیم (گاهی از طریق توالی آمینواسیدی پروتئین رمز شده یا توالی نوکلئوتیدی ژن در یک گونهٔ بسیار نزدیک)، می‌توانیم کاوشگر مکمل آن را بسازیم. برای مثال، اگر بخشی از توالی یک رشته از ژن دلخواه به‌صورت ′۳ – GGC TAA CTT AGC – ′۵ باشد می‌توانیم کاوشگری با توالی ′۵ – CCGATT GAA TCG – ′۳ بسازیم. هر مولکول کاوشگر که به‌طور اختصاصی با رشتهٔ مکمل از ژن دلخواه پیوند هیدروژنی برقرار می‌سازد، با یک ایزوتوپ رادیواکتیو یا یک مادهٔ فلوئورسنت نشان‌دار می‌شود. بنابراین می‌توان آن را ردیابی نمود.

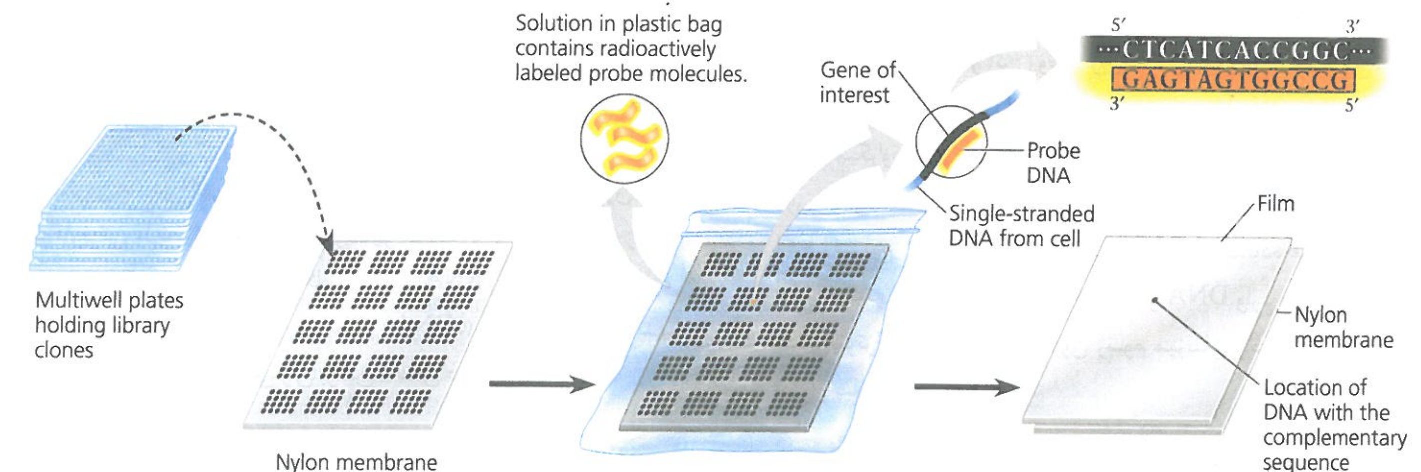
1- Nucleic acid hybridization
2- Nucleic acid probe

شکل ۷ - ۲۰ **روش تحقیق**

شناسایی یک توالی خاص DNA با دورگه‌سازی به‌وسیلهٔ کاوشگر نوکلئیک اسیدی

کاربرد: دورگه‌سازی با یک کاوشگر نوکلئیک اسیدی مکمل، DNA خاصی را درون مخلوطی از مولکول‌های DNA شناسایی می‌کند. در این مثال، مجموعه‌ای از کلون‌های باکتریایی از کتابخانهٔ ژنومی مرغ مگس غربال شده است تا کلون‌هایی که حاوی یک پلازمید دارای ژن دلخواه هستند شناخته شوند. کتابخانه در ظروف چند قسمتی نگه‌داری می‌شود به‌طوری‌که هر کلون در یک چاهک قرار دارد (شکل ۵c- ۲۰ را ببینید).

روش: سلول‌های موجود در هر کلون به یک غشای نایلونی ویژه منتقل می‌شوند. هر غشا دارای فضای کافی برای هزاران کلون است (بسیار بیشتر از چیزی که اینجا نشان داده شده است) بنابراین فقط تعداد کمی غشا برای نگه‌داری کلون‌های کتابخانه مورد نیاز است. این مجموعهٔ غشاها یک کتابخانهٔ منظم است که می‌تواند برای یک ژن خاص با استفاده از کاوشگر نشان‌دار جستجو شود. در اینجا کاوشگر، نوکلئوتید رادیواکتیو است ولی سایر نشانگرهایی که معمولاً استفاده می‌شوند آنزیم‌هایی می‌باشند که با پیوند کووالانسی به نوکلئوتید کاوشگر متصل می‌گردند. این آنزیم می‌تواند یک محصول رنگی یا درخشان تولید کند.



(۱) سلول‌های موجود در هر چاهک که معرف یک کلون هستند ظرف به ظرف به یک نقطهٔ معین روی یک غشای نایلونی ویژه منتقل می‌شوند. غشای نایلونی به گونه‌ای تیمار می‌شود که سلول‌ها را می‌شکافد و DNA آنها را واسرشت می‌کند. DNAهای تک‌رشته‌ای حاصل به غشا می‌چسبند.

(۲) غشا سپس در محلولی که حاوی مولکول‌های کاوشگر رادیواکتیو و مکمل ژن مورد نظر است قرار می‌گیرد. چون DNAی ثابت‌شده روی غشا تک‌رشته‌ای است، کاوشگر تک‌رشته‌ای می‌تواند با هر DNA مکمل جفت شود. سپس DNA اضافه شسته می‌شود. (یک لکه حاوی دورگه‌های کاوشگر رادیواکتیو ـ DNA در اینجا با رنگ نارنجی نشان داده شده است ولی ممکن است هنوز قابل رؤیت نباشد.)

(۳) غشا زیر فیلم عکاسی قرار می‌گیرد و مناطق رادیواکتیو در معرض فیلم گذاشته می‌شوند (اتورادیوگرافی). لکه‌های سیاه روی فیلم محلی را مشخص می‌کنند که در غشا، DNA با کاوشگر دورگه‌سازی شده است. این محل را می‌توان به چاهک اصلی که حاوی کلون باکتریایی بوده و حاوی ژن دلخواه می‌باشد، نسبت داد.

نتایج: لکه سیاه روی فیلم عکاسی محل کلون حاوی ژن مورد نظر را مشخص می‌کند. با استفاده از کاوشگرهای دارای توالی‌های نوکلئوتیدی متفاوت، محققان می‌توانند مجموعهٔ کلون‌های باکتریایی را برای ژن‌های مختلف جستجو کنند.

کلون‌های موجود در کتابخانهٔ ژنومی مرغ مگس را به‌یاد بیاورید که در یک ظرف چندین قسمتی نگهداری می‌شدند (شکل ۵c-۲۰ را ببینید). اگر ما چند سلول از هر قسمت را به یک مکان معین روی غشای نایلونی یا نیتروسلولزی منتقل کنیم، می‌توانیم تعداد زیادی از کلون‌ها را از نظر وجود DNA مکمل با کاوشگر DNA به‌صورت همزمان بررسی نماییم (**شکل ۷-۲۰**).

زمانی‌که محل یک کلون حاوی ژن بتا ـ گلوبین را تشخیص دادیم می‌توانیم تعدادی از سلول‌های کلونی را در یک ظرف بزرگ محیط کشت مایع رشد دهیم و سپس تعداد زیادی از کپی‌های ژن را برای مطالعهٔ خود جداسازی کنیم. ما همچنین می‌توانیم از این ژن کلون‌شده به‌عنوان یک کاوشگر برای شناسایی ژن‌های مشابه یا یکسان در DNAی موجود در منابع دیگر، مانند گونه‌های دیگر پرندگان، استفاده کنیم.

بیان ژن‌های یوکاریوتی کلون‌شده

اگر ژن خاصی در سلول‌های میزبان کلون شود، محصول پروتئینی آن را می‌توان در مقادیر زیاد برای اهداف تحقیقاتی یا کاربردهای عملی تولید کرد. موضوعی که در مبحث ۴-۲۰ بیشتر به آن می‌پردازیم. ژن‌های کلون‌شده می‌توانند در سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی به پروتئین بیان شوند که هریک مزایا و معایب خاص خود را دارد.

سیستم‌های بیان باکتریایی

واداشتن یک ژن کلون شدهٔ یوکاریوتی به فعالیت در میزبان باکتریایی مشکل است زیرا بخش‌هایی از فرایند بیان ژن در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها متفاوت می‌باشد. برای چیره‌شدن بر تفاوت‌های موجود در توالی‌های تنظیمی و راه‌اندازها معمولاً دانشمندان از **وکتور بیانی**[1] سود می‌جویند. یک وکتور بیانی، در بالادست محل ورود ژن یوکاریوتی دارای یک راه‌انداز پروکاریوتی بسیار فعال است. بنابراین باکتری میزبان، راه‌انداز را شناسایی نموده و ژن خارجی که اکنون به راه‌انداز وصل است را بیان می‌کند. به این شکل، حامل‌های بیانی تولید پروتئین‌های یوکاریوتی زیادی را در باکتری‌ها امکان‌پذیر می‌سازند.

مشکل دیگری که همراه با بیان ژن‌های کلون‌شدهٔ یوکاریوتی در باکتری‌ها به چشم می‌خورد، وجود نواحی غیررمزکننده[2] (اینترون‌ها) در اکثر ژن‌های یوکاریوتی است. اینترون‌ها ژن‌های یوکاریوتی را بسیار بلند و دست‌وپاگیر ساخته و از بیان صحیح ژن‌ها توسط باکتری‌ها که دستگاه پیرایش RNA را ندارند، جلوگیری می‌کنند. با استفاده از DNA مکمل (cDNA) ژن دلخواه، که تنها حاوی اگزون‌ها می‌باشد می‌توان بر این مشکل غلبه کرد.

سیستم‌های کلون کردن و بیان یوکاریوتی

به‌جای باکتری‌ها، زیست‌شناسان با بهره‌گیری از سلول‌های یوکاریوتی مانند مخمر به‌عنوان میزبان کلون سازی و بیان ژن‌های یوکاریوتی دلخواه می‌توانند از ناسازگاری‌های بین سیستم یوکاریوتی و پروکاریوتی جلوگیری کنند. سلول‌های مخمر (قارچ تک‌سلولی) دو امتیاز دارند: آنها همانند باکتری‌ها به آسانی رشد کرده و از پلازمید برخوردارند که این امر در بین یوکاریوت‌ها نادر است. دانشمندان حتی پلازمیدهای نوترکیبی ساخته‌اند که از ترکیب DNA باکتری و مخمر ایجاد شده و قادر است در هر دو نوع سلول همانندسازی کند.

دلیل دیگر به‌کارگیری مخمر برای بیان ژن‌های یوکاریوتی کلون شده این است که برای فعال شدن بسیاری از پروتئین‌های یوکاریوتی لازم است که این پروتئین‌ها دستخوش تغییرات پس از ترجمه مانند افزودن کربوهیدرات یا گروه‌های لیپیدی گردند. باکتری‌ها نمی‌توانند چنین تغییراتی را اعمال کنند و اگر ژنی که نیازمند چنین پردازشی است متعلق به پستانداران باشد حتی سلول‌های مخمری نیز قادر نیستند پروتئین را به‌طور صحیح تغییر دهند. به این منظور چندین نوع سلول کشت‌شده به‌عنوان سلول‌های میزبان وجود دارند که شامل برخی از رده‌های سلولی پستانداران و یک ردهٔ سلولی حشره است که می‌توانند توسط ویروسی که DNA نوترکیب را با خود حمل می‌کند و باکولو ویروس نامیده می‌شود، آلوده شود.

دانشمندان روش‌های مختلفی را برای وارد ساختن DNA نوترکیب به درون سلول‌های یوکاریوتی به‌کار می‌گیرند. در روش **الکتروپوریشن**[3] (منفذدار شدن الکتریکی)، جریان الکتریسیتهٔ کوتاه‌مدتی در محلول حاوی سلول‌ها منجر به ایجاد منافذ موقت در غشای پلاسمایی آنها شده و از طریق این منافذ DNA وارد سلول می‌شود. (هم‌اکنون از این روش برای باکتری‌ها نیز استفاده می‌شود.) در روش دیگر، دانشمندان به‌طور مستقیم و با استفاده از سوزن‌های نازک میکروسکوپی، DNA را به درون سلول‌های منفرد یوکاریوتی تزریق می‌کنند. برای وارد ساختن DNA به درون سلول گیاهی از اگروباکتریوم[4] که یک باکتری خاک‌زی است، استفاده می‌شود که در ادامه بیشتر با آن آشنا خواهید شد. اگر DNA وارد شده بتواند از طریق نوترکیبی ژنتیکی به درون ژنوم میزبان راه یابد، به‌وسیلهٔ سلول بیان خواهد شد.

بیان ژن بین گونه‌ای و دودمان تکاملی

تکامل توانایی بیان پروتئین‌های یوکاریوتی در باکتری (حتی اگر پروتئین‌ها به‌طور مناسب گلیکوزیله نباشند)، زمانی که به تفاوت سلول‌های یوکاریوتی و باکتریایی فکر کنیم. کاملاً عالی و قابل توجه است مثال‌ها و نمونه‌های زیادی از ژن‌هایی وجود دارد که هنگامی که از یک گونه به گونهٔ بسیار متفاوت انتقال داده می‌شود بسیار خوب کار می‌کند، این مشاهدات بر دودمان تکاملی گونه‌های زندهٔ امروزی تأکید می‌کنند.

یکی از این نمونه‌ها ژنی به نام *Pax-۶* است که در جانوران، از مهره‌داران گرفته تا مگس سرکه، یافت می‌شود. محصول ژن *Pax-۶* مهره‌داران (پروتئین Pax-۶) برنامهٔ پیچیده‌ای از بیان ژن را به راه می‌اندازد که نتیجهٔ آن شکل‌گیری چشم مهره‌داران است، که یک عدسی منفرد دارد. ژن *Pax-۶* مگس سرکه باعث شکل‌گیری چشم مرکب مگس می‌شود که کاملاً از چشم مهره‌داران متفاوت است. هنگامی که دانشمندان ژن *Pax-۶* موشی را کلون کرده و به جنین مگس انتقال دادند، مشاهده کردند که باعث ایجاد

1- Expression vector
2- Noncoding regions
3- Electroporation
4- *Agrobacterium*

چشم مرکب مگس شد (شکل ۱۶-۵۰ را ببینید). هنگامی که ژن *Pax-۶* مگس به جنین مهره‌دار که در این مورد وزغ بود، منتقل شد، چشم وزغ ایجاد شد. اگر چه برنامه‌های ژنتیکی موجود در مهره‌داران و مگس‌ها چشم‌های کاملاً متفاوتی را به‌وجود می‌آورند، هر دو نوع ژن *Pax-۶* می‌توانند با یکدیگر جابه‌جا شده و جانشین هم شوند. این قضیه بیانگر تکامل هر دو این ژن‌ها از یک نیای مشترک است.

مثال‌های ساده‌تری در شکل ۶-۱۷ نشان داده شده‌اند که شامل ژن کرم شب‌تاب است که در گیاه تنباکو بیان شده و محصول ژن عروس دریایی که در یک خوک ساخته شده است. مکانیسم‌های اصلی بیان ژن ریشه‌های تکاملی باستانی دارند که اساس بسیاری از روش‌های DNA نوترکیب است که در این فصل تشریح شده‌اند.

تکثیر DNA در آزمایشگاه: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

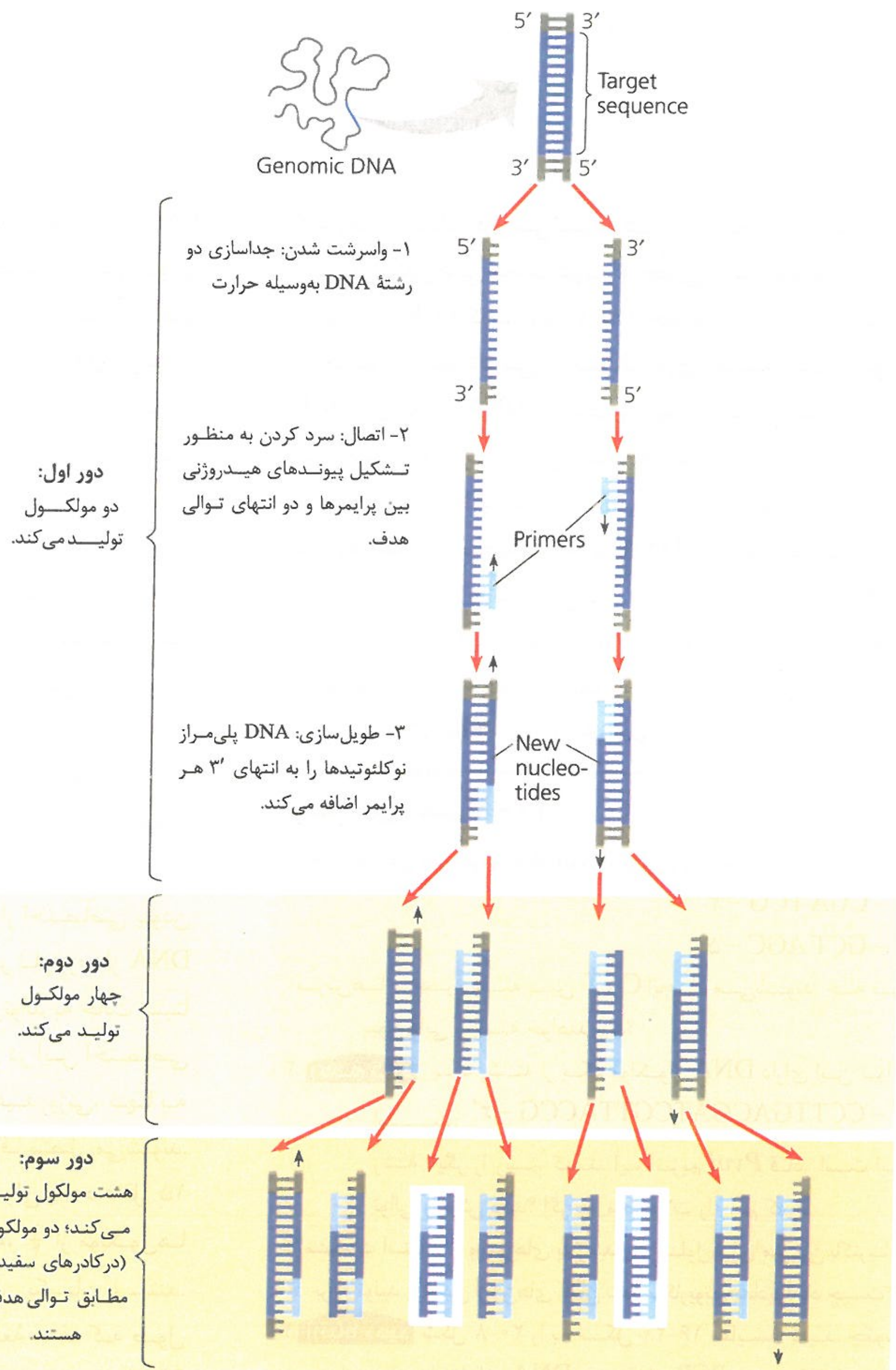
کلون کردن DNA همچنان به‌عنوان بهترین روش تولید مقادیر زیاد ژن خاص یا توالی‌های دیگر DNA است. با این‌حال وقتی منبع DNA، اندک و ناخالص باشد واکنش **زنجیره‌ای پلی‌مراز**[1] یا **PCR** سریع‌تر و مناسب‌تر از روش کلون کردن به حساب می‌آید. در این روش می‌توان یک قطعهٔ هدف را از بین تعداد زیادی مولکول DNA، در لولهٔ آزمایش به‌سرعت تکثیر نمود. PCR می‌تواند به‌طور خودکار میلیاردها نسخه از قطعهٔ هدف را ظرف چند ساعت تولید کند که این

شکل ۸-۲۰ روش تحقیق

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (*PCR*)

کاربرد: هر قطعهٔ خاص و توالی هدف درون نمونهٔ *DNA* می‌توانند به‌وسیله *PCR* در شرایط آزمایشگاهی، چندین بار تکثیر شود.

روش: *PCR* به یک *DNA* دورشته‌ای دارای توالی هدف، یک*DNA* پلی‌مراز مقاوم به حرارت، چهار نوع نوکلئوتید و دو رشته *DNA*ی ۱۵ تا ۲۰ نوکلئوتیدی، که به‌عنوان پرایمرعمل می‌کنند، نیاز دارد. یک پرایمر، مکمل یک انتهای توالی هدف روی یک رشته؛ و پرایمر دوم مکمل انتهای دیگر توالی روی رشتهٔ مقابل است.



نتایج: بعد از سه دور، دو مولکول دقیقاً منطبق با توالی هدف ایجاد می‌شود. بعد از بیش از ۳۰ دور، بیشتر از یک میلیارد (10^9) مولکول مطابق توالی هدف ایجاد می‌شود.

1 - Polymerase chain reaction

زمان بسیار سریع‌تر از زمانی است که باید برای به‌دست آوردن همین تعداد نسخه از طریق غربالگری کتابخانهٔ DNA برای جستجوی کلونی با ژن دلخواه و فرصت دادن به آن برای همانندسازی درون سلول میزبان، صرف کرد. در واقع، PCR به‌طور فزاینده‌ای برای ساخت مقادیر کافی از قطعات DNA خاص و وارد کردن مستقیم آن به یک حامل استفاده می‌شود و به کمک آن مراحل ساخت و غربالگری یک کتابخانه به‌طور کامل حذف می‌شود. در واقع، PCR شبیه به فتوکپی کردن یک صفحه است به جای اینکه تمام کتاب‌های یک کتابخانه را جستجو کنیم.

در واکنش PCR، یک چرخهٔ سه مرحله‌ای به‌صورت زنجیره‌ای از واکنش‌ها، به‌طور نمایی[1] سبب افزایش تعداد مولکول‌های DNA همسان می‌گردد. در خلال هر چرخه، ابتدا مخلوط واکنش طوری حرارت داده می‌شود که رشته‌های DNA واسرشت شده[2] (از هم جدا شوند) و سپس با کاهش دما روبه‌رو شوند تا توالی‌های پرایمری که DNAهای تک‌رشته‌ای کوتاه و مکمل DNA هدف می‌باشند، به هر دو انتهای توالی هدف در رشته‌های روبه‌رو بچسبند (تشکیل پیوند هیدروژنی). در پایان، یک آنزیم DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت، پرایمرها را در جهت $5'$ به $3'$ طویل می‌سازد. اگر قرار بود از یک پلی‌مراز معمولی استفاده شود، آنزیم در حین اولین مرحلهٔ حرارت‌دهی، همراه با DNA، تخریب می‌شد و می‌بایستی بعد از هر مرحله، دوباره در واکنش جایگزین شود. عامل کلیدی در خودکارسازی واکنش PCR، کشف DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت بود که اولین‌بار از پروکاریوت‌های چشمه‌های آب گرم جدا شد. این آنزیم می‌تواند حرارت موجود در ابتدای هر چرخه را به‌خوبی تحمل کند. **شکل ۸-۲۰** مراحل PCR را نشان می‌دهد.

واکنش PCR علاوه بر سرعت فوق‌العاده، از اختصاصی بودن شگفت‌انگیزی نیز برخوردار است. تنها مقادیر ناچیزی از DNA برای شروع کار نیاز است و حتی این DNA می‌تواند به حالت نسبتاً تجزیه‌شده نیز وجود داشته باشد. عنصر کلیدی در این اختصاصی بودن بالا پرایمرها هستند که از طریق پیوند هیدروژنی، تنها به توالی‌های موجود در دو انتهای مخالف توالی هدف متصل می‌شوند. (برای اختصاصی بودن زیاد، پرایمرها باید طولی با حداقل ۱۵ نوکلئوتید داشته باشند.) در انتهای چرخهٔ سوم، $\frac{1}{4}$ از مولکول‌ها اندازه‌های مساوی با قطعهٔ هدف دارند و با آن یکسان هستند. به‌دنبال هر چرخهٔ متوالی، تعداد مولکول‌های قطعهٔ هدف که طول مناسب دارند، دو برابر شده تعداد قطعات مورد نظر از DNA دورشته‌ای با طول صحیح در هر دور دوبرابر می‌شود، پس تعداد مولکول‌ها مساوی با 2^n است که n همان تعداد دورهاست. بعد از بیش از ۳۰ دور، حدود یک میلیارد نسخه از توالی هدف وجود خواهد داشت.

با وجود سرعت و اختصاصی بودن، تکثیر از طریق PCR هرگز نمی‌تواند جایگزین مناسبی برای کلون کردن ژن در مواردی باشد که دستیابی به مقادیر زیادی از ژن مورد نظر است. اشتباه‌های تصادفی که در حین تکثیر با PCR رخ می‌دهد، تعداد نسخه‌های مناسبی که توسط این روش حاصل می‌گردد را با محدودیت مواجه می‌سازد. وقتی PCR برای ساخت قطعات خاص DNA جهت کلون کردن مورد استفاده قرار می‌گیرد، کلون‌های ایجادشده توالی‌یابی می‌شوند تا کلون‌هایی انتخاب شوند که خطایی نداشته باشند.

واکنش PCR که در سال ۱۹۸۵ اختراع شد تأثیر چشمگیری بر تحقیقات زیست‌شناسی و زیست‌فن‌آوری گذاشته است. تاکنون از PCR برای تکثیر DNA از طیف وسیعی از منابع استفاده شده است. قطعات DNA باستانی مربوط به یک ماموت یخ‌زدهٔ ۴۰,۰۰۰ ساله، DNA مربوط به اثر انگشت یا مقدار بسیار کم خون، بافت یا منی یافت‌شده در صحنه‌های جرم، DNAی سلول جنینی منفرد برای تشخیص سریع نارسایی‌های ژنتیکی مادرزادی و DNAی ژن‌های ویروسی مانند ویروس HIV در سلول آلوده که به سختی ردیابی می‌شود، از جملهٔ این منابع به شمار می‌آیند. در ادامهٔ فصل کاربردهای دیگر PCR را بازگو خواهیم کرد.

پرسش‌های مبحث ۱-۲۰

۱. جایگاه برش یک آنزیم به‌نام *PvuI*، توالی زیر است:

$5' - CGATCG - 3'$

$3' - GCTAGC - 5'$

برش‌ها در هر رشته بین T و C ایجاد می‌شوند. چه نوع پیوندهایی شکسته خواهند شد؟

۲. **رسم کنید** یک رشته از یک مولکول DNA دارای این توالی است: $5' - CCTTGACGATCGTTACCG - 3'$ رشتهٔ دیگر را رسم کنید. آیا آنزیم *PvuI* قادر است این توالی را برش دهد؟ اگر بله محصولات را رسم کنید.

۳. مشکلات استفاده از وکتورهای پلازمیدی و سلول‌های میزبان باکتریایی برای تولید پروتئین از ژن‌های کلون شدهٔ یوکاریوتی مقادیر زیاد چیست؟

۴. **ارتباط دهید** شکل ۸-۲۰ را با شکل ۲۰-۱۶ مقایسه کنید. چگونه همانندسازی انتهاهای DNA در هنگام PCR بدون کوتاه شدن قطعات در هر دور اتفاق می‌افتد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Exponentially
2- Denaturation

۲-۲۰ فن‌آوری DNA به ما اجازه می‌دهد تا توالی، بیان و عملکرد یک ژن خاص را مطالعه کنیم

با روش‌های موجود برای تولید شمار زیادی از قطعات DNA همسان می‌توانیم به سؤالات جالبی در ارتباط با ژن‌های خاص و عملکرد آنها پاسخ دهیم. برای مثال، آیا توالی ژن بتا ـ گلوبین در مرغ مگس‌خوار، ساختار پروتئینی را رمز می‌کند که نسبت به همتایش در یک گونهٔ کمترفعال از نظر متابولیک، به‌طور کارآمدتری قادر به حمل اکسیژن است؟ آیا یک ژن انسانی خاص از یک فرد به فرد دیگر متفاوت است؟ و آیا الل‌های خاص با نارسایی‌های وراثتی ارتباط دارند؟ یک ژن خاص در کدام قسمت بدن و در چه زمانی بیان می‌شود؟ و در آخر، یک ژن خاص در یک جاندار چه نقشی ایفا می‌کند؟

قبل از اینکه به این سؤالات جالب پاسخ دهیم باید چند روش آزمایشگاهی استاندارد که برای آنالیز DNA مربوط به ژن‌ها به‌کار می‌روند را بررسی نمائیم.

الکتروفورز در ژل و لکه‌گذاری ساترن

بسیاری از راهکارهای مطالعهٔ DNA با استفاده از **الکتروفورز در ژل** امکان‌پذیر می‌گردد. در این روش، از یک ژل ساخته‌شده از یک پلی‌مر، مانند پلی‌ساکارید آگارز استفاده می‌شود. این ژل به‌عنوان یک غربال مولکولی برای جداسازی نوکلئیک اسیدها یا پروتئین‌ها براساس اندازه، بار الکتریکی و دیگر ویژگی‌های فیزیکی آنها عمل می‌کند (**شکل ۹-۲۰**). مولکول‌های نوکلئیک اسید دارای بارهای منفی بروی گروه‌های فسفات خود هستند بنابراین در میدان الکتریکی به سمت الکترود مثبت حرکت می‌کنند. در حین حرکت، منافذ موجود در تاروپود پلی‌مری ژل، حرکت مولکول‌های بزرگ‌تر را نسبت به قطعات کوچک‌تر آهسته‌تر می‌کند، لذا این قطعات براساس طول‌شان از هم جدا می‌شوند. بنابراین الکتروفورز در ژل، مخلوط مولکول‌های خطی DNA را به‌صورت نوارهایی که هریک دارای مولکول‌های DNA هم‌اندازه هستند، تفکیک می‌کند.

یک کاربرد این روش، **آنالیز قطعات حاصل از برش**[1] می‌باشد. این روش می‌تواند به‌سرعت اطلاعات مفیدی دربارهٔ توالی‌های DNA به‌دست دهد. در این نوع آنالیز، قطعات DNAای که از برش یک مولکول DNA به‌وسیلهٔ آنزیم‌های محدودکننده، حاصل می‌شوند، با الکتروفورز در ژل دسته‌بندی می‌گردند.

1- Restriction fragment analysis

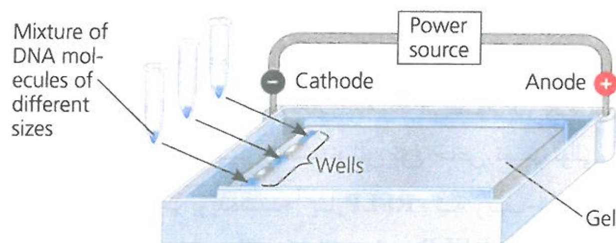
شکل ۹- ۲۰ روش تحقیق

الکتروفورز در ژل

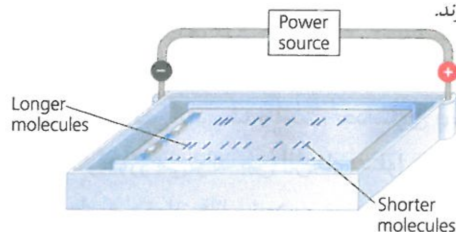
کاربرد: الکتروفورز در ژل برای جداسازی نوکلئیک اسیدها یا پروتئین‌هایی که در اندازه، بار الکتریکی یا دیگر خصوصیات فیزیکی اختلاف دارند به‌کار برده می‌شود. مولکول‌های DNA در آنالیز قطعات برشی ژن‌های کلون شده (شکل ۱۰- ۲۰) و DNA ژنومی (شکل ۱۱- ۲۰) به‌وسیله الکتروفورز در ژل جدا می‌شوند.

روش: الکتروفورز در ژل، درشت‌مولکول‌ها را براساس میزان حرکت آنها از خلال ژل آگارز در یک میدان الکتریکی از یکدیگر جداسازی می‌کند: مسافتی که مولکول DNA جابه‌جا می‌شود با طول آن نسبت عکس دارد. یک مخلوط از مولکول‌های DNA که معمولاً قطعاتی هستند که با برش توسط آنزیم محدود کننده به‌وجود آمده‌اند به‌صورت نوارهایی از هم جدا می‌شوند. هر نوار شامل هزاران مولکول هم‌اندازه است.

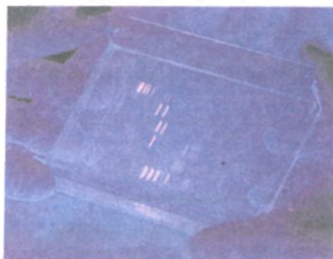
(۱) هر نمونه، که مخلوطی از مولکول‌های DNA می‌باشد، در یک چاهک مجزا نزدیک انتهای ژل ریخته می‌شود. ژل توسط صفحات شیشه‌ای حفاظت شده و در یک محلول آبی قرار داده می‌شود و الکترودهایی دارد که به دو انتهای آن اتصال یافته است.



(۲) هنگامی‌که جریان الکتریکی برقرار می‌شود، مولکول‌های DNA با بار منفی به سمت الکترود مثبت حرکت کرده و مولکول‌های کوچک‌تر با سرعت بیشتری نسبت به انواع بزرگ‌تر جابه‌جا می‌شوند. در اینجا نوارها آبی نشان داده شده‌اند اما در یک ژل واقعی، نوارها تا زمانی‌که رنگ متصل‌شونده به DNA اضافه نشود، قابل دیدن نیستند. کوچک‌ترین مولکول‌ها که سریع‌ترین حرکت را انجام می‌دهند در انتهای ژل قرار می‌گیرند.



نتایج: بعد از قطع جریان، رنگ قابل اتصال به DNA افزوده می‌شود. این رنگ فلوئورسنت صورتی در زیر نور فرا بنفش نوارهای تفکیک شده را که به آنها متصل شده آشکار می‌کند. در این ژل واقعی، نوارهای صورتی نمایانگر قطعات DNA در اندازه‌های مختلفی هستند که به‌وسیله الکتروفورز از هم جدا شده‌اند. اگر همهٔ این نمونه‌ها در آغاز با یک نوع آنزیم محدودکننده تجزیه شده باشند، الگوهای مختلف از نوارها بیانگر این است که نمونه‌ها از منابع متفاوتی به‌دست آمده است.

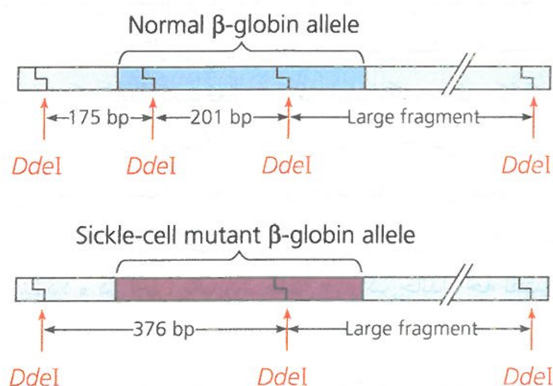


هنگامی‌که مخلوط قطعات حاصل از DNAی خاصی، تحت الکتروفورز قرار گیرد، الگویی از نوارها به‌وجود می‌آورد که برای مولکول DNA اولیه و آنزیم محدودکنندهٔ مورد استفاده، اختصاصی می‌باشد. در واقع، مولکول‌های DNAی نسبتاً کوچک ویروسی یا پلازمیدی را می‌توان به‌سادگی از طریق الگوهای قطعات برشیِ آنها تشخیص داد. DNA را می‌توان به‌طور سالم از ژل بازیابی نمود، بنابراین از این روش می‌توان برای تهیهٔ نمونه‌هایی خالص از قطعات DNA خاص استفاده کرد. (مولکول‌های بزرگ‌تری مانند کروموزوم یوکاریوتی قطعات بسیار زیادی ایجاد می‌کنند و به‌جای آنکه به‌صورت نوارهای مجزا دیده شوند به‌صورت یک لکهٔ کشیدهٔ بزرگ (اسمیر) ظاهر می‌شوند).

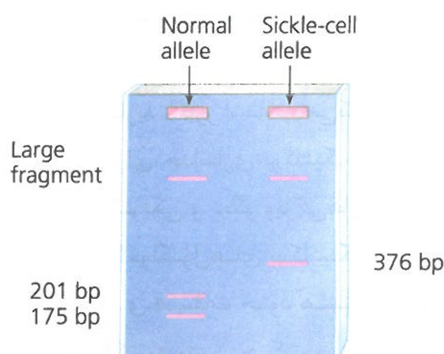
علاوه براین، بررسی قطعات برشی برای مقایسهٔ دو مولکول مختلف DNA، مانند دو الل یک ژن مفید است ـ مثلاً در دو الل یک ژن، اگر اختلاف نوکلئوتیدی باعث ایجاد یک جایگاه برش آنزیم محدودکننده شود. تغییر حتی یک جفت باز از توالی، آنزیم محدود کننده را از برش باز خواهد داشت. گوناگونی‌های توالی DNA در جمعیت، پلی‌مورفیسم (چند شکلی) نامیده می‌شود. (از واژهٔ یونانی به معنای «شکل‌های بسیار» است) و این نوع خاص تغییر توالی، **چند شکلی طولیِ قطعات بریده‌شده**[1] یا **RFLP** (که ریف-لیپ تلفظ می‌شود) نامیده می‌شود. اگر یک الل حاوی RFLP باشد، برش با آنزیمی که این جایگاه را می‌شناسد مخلوط گوناگونی از قطعات را برای آن الل تولید می‌کند. هر مخلوط الگوی نوار خودش را روی ژل الکتروفورز ایجاد می‌کند.

به‌طور مثال، بیماری کم‌خونی داسی‌شکل به‌وسیلهٔ جهشی در یک نوکلئوتید منفرد ایجاد می‌شود که درست در توالی برشیِ ژن بتا ـ گلوبین قرار گرفته است (شکل ۲۳-۱۷ را ببینید). همان‌گونه که در **شکل ۱۰-۲۰** نمایش داده شده است، جداسازی قطعات برش یافته به‌وسیلهٔ الکتروفورز می‌تواند بین الل‌های سلول داسی‌شکل و ژن بتا ـ گلوبین طبیعی تمایز قائل شود.

مواد اولیه در شکل ۱۰-۲۰، نمونه‌های کلون شده و خالص‌شدهٔ الل‌های بتا ـ گلوبین هستند. ولی اگر الل‌های خالص‌سازی‌شده را برای شروع نداشته باشیم چه کنیم؟ فرض کنید می‌خواهیم تعیین کنیم که آیا یک فرد، حامل الل جهش‌یافتهٔ بیماری سلول داسی‌شکل است یا نه. در این مورد، ما به‌طور مستقیم DNA ژنومی این فرد را با DNA فردی که بیماری سلول داسی‌شکل را داشته (و برای الل جهش‌یافته هوموزیگوس است) و DNA فردی که برای الل طبیعی هوموزیگوس است، مقایسه می‌کنیم. همان‌طور که قبلاً ذکر کردیم الکتروفورز DNA ژنومی تجزیه‌شده با یک آنزیم محدودکننده، نوارهای بسیار زیادی تولید می‌کند به‌طوری که نمی‌توان به این وسیله تفاوتی بین این سه فرد قائل شد. اما با استفاده از روشی به‌نام **لکه‌گذاری ساترن**[2] (به‌وسیلهٔ بیوشیمی‌دان انگلیسی، ادوین ساترن[3] ایجاد شد) که ترکیبی از الکتروفورز در ژل



(a) جایگاه‌های برش آنزیم DdeI در الل‌های طبیعی و سلول داسی شکل ژن بتا ـ گلوبین. آنچه در اینجا نشان داده شده، الل‌های کلون شده‌ای است که از DNAی وکتور جدا شده اما نواحی از DNAی اطراف توالی رمزگذار را دربر می‌گیرد. الل طبیعی دارای دو جایگاه برش در توالی رمزگذار است که به‌وسیله آنزیم محدود کنندهٔ DdeI شناسایی شده است. الل سلول داسی‌شکل فاقد یکی از این جایگاه‌ها است.



(b) الکتروفورز قطعات برشیِ الل‌های طبیعی و داسی‌شکل. نمونه‌های مربوط به هریک از الل‌ها تخلیص شده، با آنزیم DdeI برش یافته و سپس الکتروفورز می‌گردد که منجر به ظهور سه نوار برای الل طبیعی و دو نوار برای الل داسی‌شکل خواهد شد. (قطعات بسیار کوچکی که در انتهاهای هر دو مولکول DNA اولیه وجود داشته یکسان بوده و در اینجا مشاهده نمی‌شود).

شکل ۱۰- ۲۰ تشخیص الل‌های طبیعی و داسی‌شکلِ ژن بتا ـ گلوبین با استفاده از بررسی قطعات برشیِ ژن بتا-گلوبین انسانی.

چه می‌شد اگر؟ کلونی‌های باکتریایی نوترکیبی را فرض کنید که حاوی هریک از این الل‌ها هستند. شما چگونه DNA این الل‌ها را جدا می‌کنید تا بتوانید نمونهٔ خاص برای قرارگیری روی ژل در قسمت (b) را به‌دست آورید؟ (راهنمایی: شکل‌های ۴- ۲۰ و ۹- ۲۰ را مطالعه کنید.)

1- Restriction fragment length polymorphism

2 - Southern blotting
3 - Edwin Southern

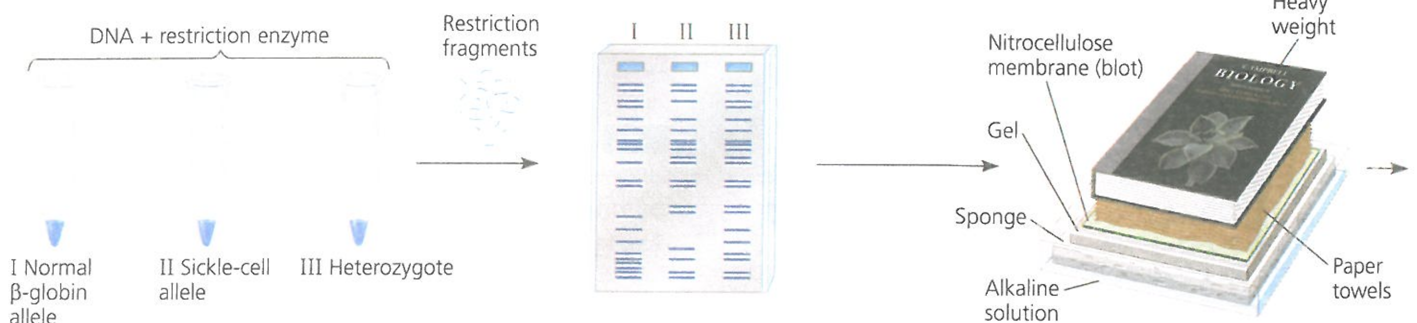
و دورگه‌سازی نوکلئیک اسید است، می‌توانیم تنها نوارهایی که مربوط به بخش‌های مختلف ژن بتا-گلوبین می‌باشد را تشخیص دهیم. اساس این روش مشابه دورگه‌سازی نوکلئیک اسید در فرایند غربالگری کلون‌های باکتری است (شکل ۷-۲۰ را ببینید). در این مورد، کاوشگر (پروب) یک مولکول DNA تک‌رشته‌ای رادیواکتیو است که مکمل ژن بتا-گلوبین می‌باشد. **شکل ۱۱-۲۰** کل روش را نشان داده و مشخص می‌کند که این روش چگونه یک هتروزیگوت را (در این مورد، برای الل سلول داسی) از فردی که برای الل طبیعی هوموزیگوس است، تشخیص می‌دهد.

شکل ۱۱-۲۰ روش تحقیق

لکه‌گذاری ساترن قطعات DNA

کاربرد: با استفاده از این روش دانشمندان می‌توانند توالی‌های خاصی را درون نمونهٔ DNA تشخیص دهند. لکه‌گذاری ساترن به‌ویژه جهت مقایسهٔ قطعات برشی حاصل از نمونه‌های مختلف DNA ژنومی مفید است.

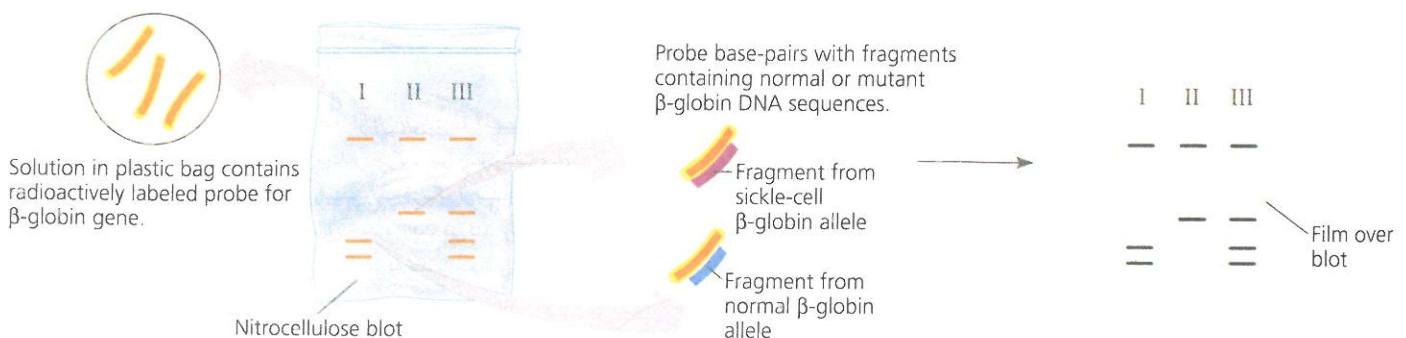
روش کار: در این مثال، نمونه‌های DNA ژنومی مربوط به سه فرد را با یکدیگر مقایسه کرده‌ایم: (۱) فرد هوموزیگوت برای الل بتا - گلوبین طبیعی، (۲) فرد هوموزیگوت برای الل داسی‌شکل و (۳) فرد هتروزیگوت. مانند شکل ۷- ۲۰ ما یک کاوشگر نشان‌دار رادیواکتیو را نشان می‌دهیم، ولی روش‌های دیگر نشان‌دار کردن کاوشگر و شناسایی آن هم استفاده می‌شوند.



(۱) ایجاد قطعات برشی. هر نمونهٔ DNA با یک آنزیم محدود کننده (در اینجا DdeI) مخلوط می‌شود، هضم هر نمونه مخلوطی از هزاران قطعهٔ برشی را ایجاد می‌نماید.

(۲) الکتروفورز در ژل. قطعات برشی مربوط به هر نمونه که به‌وسیله الکتروفورز جدا می‌گردند نوارهایی با الگوی ویژه تولید می‌کنند. (در حقیقت نسبت به آن‌چه در این شکل نشان داده شده نوارهای بسیار بیشتری وجود داشته که تا زمانی‌که رنگ‌آمیزی نشوند قابل دیدن نیستند.)

(۳) لکه‌گذاری DNA. مشابه آنچه که در تصویر به نمایش درآمده است و نحوهٔ قرار گرفتن ژل، خاصیت موئینگی، محلول قلیایی را از خلال ژل به سمت بالا کشیده و DNA به یک ورق از کاغذ نیتروسلولز منتقل (لکه‌گذاری) و در ادامه واسرشت می‌شود. رشته‌های DNA تک‌رشته‌ای در موقعیت‌های مشابه به مکان‌های خود در ژل برروی کاغذ لکه‌گذاری می‌چسبند.



(۴) دورگه‌سازی با کاوشگرهای رادیواکتیو. کاغذ لکه‌گذاری با محلول حاوی کاوشگر نشان‌دارشده با مواد رادیواکتیو مواجه می‌گردد. در این مثال کاوشگر DNA تک‌رشته‌ای مکمل ژن بتا-گلوبین است. مولکول‌های نشانگر با پیوند هیدروژنی به هریک از قطعات برشی که حاوی قسمتی از ژن بتا-گلوبین هستند متصل می‌شود. (هنوز نوارها قابل دیدن نیستند.)

(۵) شناسایی کاوشگر. یک ورقه از فیلم عکاسی برروی کاغذ لکه‌گذاری قرار داده می‌شود. خاصیت رادیواکتیو کاوشگرهای متصل سبب می‌شوند که تصویری متناسب با نوارهای DNA که با این کاوشگرها پیوند هیدروژنی برقرار ساخته‌اند، ایجاد گردد.

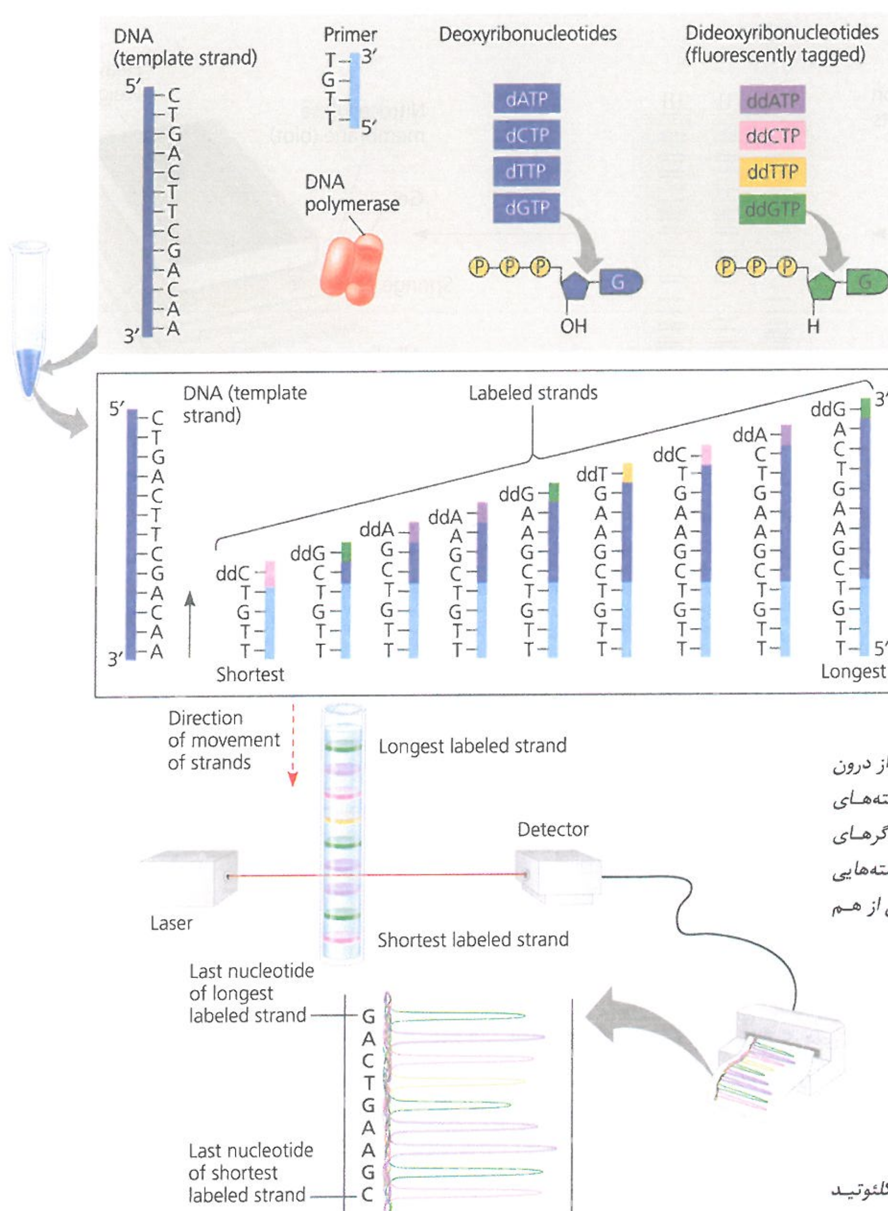
نتایج: به دلیل آنکه الگوی نوارهای مربوط به ۳ نمونه با یکدیگر کاملاً متفاوت می‌باشد، می‌توان از این روش برای تشخیص فرد ناقل هتروزیگوت الل داسی‌شکل (فرد سوم) از فرد بیمار با دو الل جهش‌یافته (فرد دوم) و شخص سالم با دو الل طبیعی (نفر اول) استفاده کرد. الگوی نوارهای نمونه‌های ۱ و ۲ به‌ترتیب مشابه افرادی است که الل‌های طبیعی و جهش‌یافتهٔ خالص دارند. الگوی نوار نمونهٔ فرد هتروزیگوت (شماره ۳) ترکیبی از الگوهای دو فرد هموزیگوت می‌باشد.

شکل ۱۲-۲۰ روش تحقیق

روش پایان زنجیرهٔ دی‌دئوکسی برای توالی‌یابی DNA

کاربرد: توالی نوکلئوتیدهای هر قطعه DNA کلون شده تا اندازهٔ ۱۰۰۰ - ۸۰۰ جفت باز را می‌توان با سرعت به‌وسیله ماشین‌های تخصصی که واکنش‌های توالی‌یابی را انجام و محصولات نشان‌دار واکنش را براساس اندازه جدا می‌کنند، تعیین نمود.

روش: این روش مجموعه‌ای از رشته‌های DNA کوتاه‌تر مکمل با قطعهٔ DNA اولیه ایجاد می‌نماید. همهٔ رشته‌ها با یک پرایمر مشابه آغاز شده و به یک دی‌دئوکسی‌ریبونوکلئوتید (ddNTP) که یک نوکلئوتید تغییریافته است ختم می‌شود. ورود ddNTP رشد رشتهٔ DNA را متوقف می‌کند زیرا این نوکلئوتید فاقد گروه هیدروکسیل در انتهای ′۳ که جایگاه اتصال نوکلئوتید بعدی است، می‌باشد. (به شکل ۱۳-۱۶ نگاه کنید.) در مجموعه رشته‌های ساخته‌شده، موقعیت هر نوکلئوتید برروی توالی اصلی به وسیله خاتمهٔ رشته‌ها با ورود ddNTP مکمل، در آن مکان نشان داده می‌شود. به‌خاطر آنکه هر نوع ddNTP با یک رنگ فلوئورسنت مجزا نشان‌دار شده، تشخیص نوکلئوتیدهای انتهایی رشتهٔ جدید و در نهایت توالی کامل اصلی امکان‌پذیر است.



(۱) قطعه‌ای از DNA که بایستی توالی‌یابی شود به‌صورت رشته‌های تکی واسرشت شده و به همراه اجزای ضروری دیگر درون لولهٔ آزمایش برای ساخت DNA مخلوط می‌شود که شامل: پرایمری که برای اتصال با انتهای ′۳- از رشتهٔ الگو طراحی شده، آنزیم DNA پلیمراز، ۴ نوع دئوکسی‌ریبونوکلئوتید و ۴ دی دئوکسی‌ریبونوکلئوتید که هر یک با یک مولکول فلوئورسنت اختصاصی نشان‌دار شده‌اند، می‌باشند.

(۲) شروع ساخت رشتهٔ جدید از انتهای ′۳ پرایمر و ادامه‌یافتن آن تا زمانی‌که یک دی‌دئوکسی ریبونوکلئوتید به‌طور تصادفی به‌جای دئوکسی ریبو نوکلئوتید مشابه وارد زنجیره گردد. این عمل از طویل‌شدن بیشتر رشته جلوگیری می‌کند. در انتها، مجموعه‌ای از رشته‌های نشان‌دارشده با اندازه‌های مختلف تولید گردیده که رنگ هر نشانگر بیانگر آخرین نوکلئوتید در توالی می‌باشد.

(۳) رشته‌های نشان‌دارشده در واکنش با عبور از ژل پلی‌آکریل‌آمید از درون یک لوله موئینه جدا می‌شوند که این امر به‌دلیل حرکت سریع‌تر رشته‌های کوچک‌تر رخ می‌دهد. یک شناساگر فلوئورسنت رنگ هریک از نشان‌گرهای فلوئورسنت را در حین عبور رشته‌ها از مقابل خود دریافت می‌کند. رشته‌هایی که حتی در یک نوکلئوتید نیز با یکدیگر اختلاف دارند را می‌توان از هم تشخیص داد.

نتایج: رنگ نشانگر فلوئورسنت در انتهای هر رشته، هویت نوکلئوتید انتهایی را آشکار می‌سازد. نتایج را می‌توان به شکل طیف چاپ کرد و این توالی را که مکمل رشتهٔ الگو می‌باشد را می‌توان از پایین به بالا خواند. (توجه کنید که این توالی بعد از توالی پرایمر را نشان می‌دهد.)

شناسایی افراد حامل الل‌های جهش‌یافته‌ای که با بیماری‌های ژنتیکی در ارتباط‌اند فقط یکی از کاربردهای لکه‌گذاری ساترن است. در واقع این روش برای چندین سال یک روش بسیار پراستفاده بوده است ولی اخیراً با روش‌های سریع‌تر، مانند PCR جایگزین شده است.

توالی‌یابی DNA

زمانی‌که یک ژن کلون می‌شود، تمام توالی نوکلئوتیدی آن قابل شناسایی می‌گردد. امروزه توالی‌یابی با استفاده از ماشین‌های توالی‌یاب، خودکار شده است. این راهکار خودکار بر پایهٔ روشی به‌نام **روش اختتام زنجیره با دی‌دئوکسی‌ریبو نوکلئوتید**[1] (یا به اختصار، **دی‌دئوکسی**) استوار است که در **شکل ۱۲-۲۰** نشان داده شده است. این روش توسط دانشمند انگلیسی فردریک سانگر[2] پایه‌گذاری شد، کسی که در سال ۱۹۸۰ برای کشف خود جایزهٔ نوبل را دریافت کرد (یکی از چهار نفری که دوبار جایزهٔ نوبل گرفته‌اند. سانگر جایزهٔ نوبل دیگر خود را در سال ۱۹۷۵ برای تعیین توالی آمینواسیدی انسولین دریافت کرد.)

در ده سال گذشته، تکنیک‌های «توالی‌یابی جدید»، بدون تکیه بر اختتام زنجیره، ابداع شده‌اند. یک تک‌رشتهٔ الگو ثابت نگه داشته می‌شود، مواد مورد نیاز به آن اضافه می‌شود و با افزودن نوکلئوتیدها به صورت تک تک و تولید یک رشتهٔ مکمل، توالی‌یابی انجام می‌شود. یک روش شیمیایی، مانیتورهای الکترونیکی را قادر به تشخیص نوکلئوتیدهایی که در حال اضافه شدن هستند می‌سازد که نهایتاً به تعیین توالی قطعه می‌انجامد. تحولات تکنیکی بیشتر باعث شکل‌گیری «توالی‌یابی نسل سوم» شده است که نسبت به تکنیک‌های قبلی سریع‌تر و ارزان‌تر می‌باشد. در فصل ۲۱، خواهید آموخت که این رشد سریع تکنیک‌های توالی‌یابی چگونه مطالعات ما دربارهٔ ژن‌ها و تمامی ژنوم را افزایش داده و پیش می‌برد.

دانستن توالی یک ژن به محققان امکان می‌دهد تا آن را به‌طور مستقیم با ژن‌های گونه‌های دیگر مقایسه کرده و به این طریق عملکرد محصول ژن را بشناسند. اگر دو ژن از دو گونهٔ متفاوت توالی مشابهی داشته باشند منطقی است که فرض کنیم محصولات ژنی‌شان هم اعمال مشابهی انجام می‌دهند. به این شکل، مقایسهٔ توالی ژن‌ها، راهنمایی برای یافتن عملکرد آنهاست، موضوعی که کمی بعد به آن می‌پردازیم. راهنماهای دیگر، راهکارهای تجربی‌ای هستند که زمان و مکان بیان ژن را بررسی می‌کنند.

1- Dideoxyribonucleotide Chain termination method
2- Frederick Sanger

آنالیز بیان ژن

با کلون کردن یک ژن خاص محققان می‌توانند کاوشگرهای اسید نوکلئیکی نشان‌دار شده‌ای تولید کنند که با RNA پیک رونویسی‌شده از روی آن ژن اتصال برقرار کند. این کاوشگرها می‌توانند اطلاعات لازم در مورد اینکه ژن در چه زمان و مکانی درون جاندار بیان می‌شود را در اختیار قرار دهند. رونویسی معمولاً به‌عنوان مقیاسی برای بیان ژن به‌کار می‌رود.

مطالعهٔ بیان ژن‌های منفرد

فرض کنید که می‌خواهیم بدانیم بیان ژن بتا - گلوبین چگونه در طول تکوین جنینی مرغ مگس تغییر می‌کند. برای انجام این کار حداقل دو راه وجود دارد.

اولین راه **لکه‌گذاری نورترن**[3] نامیده می‌شود. (نام‌گذاری این روش به علت شباهت آن به روش لکه‌گذاری ساترن می‌باشد.) در این روش، ما برای نمونه‌های RNA پیک حاصل از جنین مرغ مگس در مراحل مختلف تکوین، الکتروفورز در ژل انجام می‌دهیم، نمونه‌ها را به یک غشای نیتروسلولزی منتقل کرده و اجازه می‌دهیم تا RNAهای پیک روی غشا با یک کاوشگر نشان‌دارشده که RNA پیک بتا-گلوبین را تشخیص می‌دهد، پیوند برقرار کنند. اگر یک فیلم را در معرض غشا قرار دهیم، تصویر ایجادشده شبیه لکه‌گذاری ساترن در شکل ۱۱-۲۰ خواهد بود که دارای یک نوار با اندازهٔ خاص است که در هر نمونه پدیدار می‌شود. اگر نوار RNA پیک در یک مرحلهٔ خاص دیده شود، این فرضیه مطرح می‌شود که پروتئین مربوط به آن در وقایع مربوط به آن مرحله فعالیت می‌کند. لکه‌گذاری نورترن هم، مانند لکه‌گذاری ساترن برای چندین سال یک روش بسیار کارآمد بوده است که امروزه در آزمایشگاه‌های مختلف با روش‌های دیگر جایگزین شده است.

روشی که سریع‌تر و حساس‌تر است (و بنابراین به‌طور گسترده‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد) **واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با نسخه‌بردار معکوس**[4] یا **RT-PCR** می‌باشد (**شکل ۱۳-۲۰**). آنالیز بیان ژن بتا-گلوبین مرغ مگس با RT-PCR نیز مشابه روش لکه‌گذاری نورترن، با جداسازی RNAهای پیک از مراحل تکوینیِ مختلف جنین مرغ مگس شروع می‌شود. سپس نسخه‌بردار معکوس برای ساخت DNA مکمل اضافه می‌شود. DNA مکمل با استفاده از

3- Northern blotting
4- Reverse transcriptase-polymerase chain reaction

پرایمرهای ژن بتاـگلوبین، به‌عنوان الگویی برای PCR، تکثیر می‌شود. وقتی‌که محصولات روی ژل قرار بگیرند، کپی‌های منطقهٔ تکثیر شده به‌صورت نوارهایی و فقط در نمونه‌های حاوی RNA پیک بتاـگلوبین دیده می‌شوند. برای مثال، در مورد بتاـگلوبین مرغ مگس انتظار داریم که نوار در مرحله‌ای که گلبول‌های قرمز خون شروع به تشکیل می‌کنند و در تمام مراحل بعدی ظاهر شود. RT-PCR همچنین می‌تواند با استفاده از RNAهای پیکی که در یک زمان از بافت‌های مختلف جمع‌آوری شده‌اند انجام شود تا نشان دهد که کدام بافت یک RNA پیک خاص را تولید می‌کند.

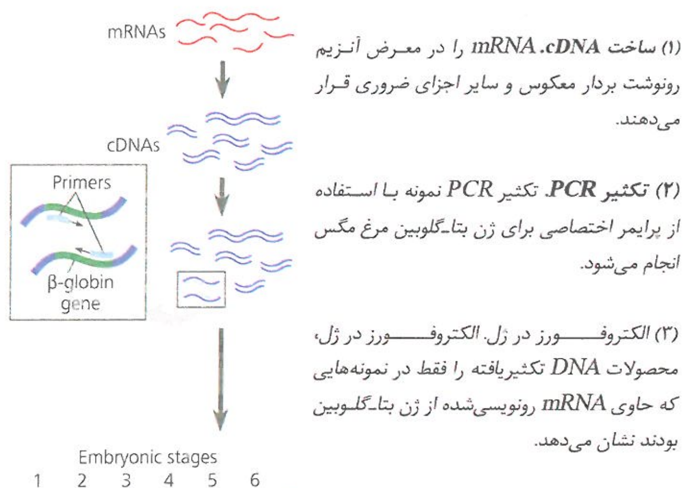
یک راه دیگر برای تعیین اینکه کدام بافت‌ها یا سلول‌ها ژن‌های خاصی را بیان می‌کنند، شناسایی محل RNAهای پیک خاص با استفاده از کاوشگرهای نشان‌دار شده در همان محل یا به‌صورت «درجا[1]» یعنی درون جاندار دست‌نخورده است. این روش که **دورگه‌سازی درجا**[2] نامیده می‌شود معمولاً با استفاده از کاوشگرهایی که با رنگ‌های فلوئورسنت نشان‌دار شده‌اند انجام می‌پذیرد (فصل ۶ را ببینید). کاوشگرهای مختلف می‌توانند با رنگ‌های مختلف نشان‌دار شوند و گاهی نتایج بسیار زیبایی ایجاد می‌کنند (**شکل ۱۴-۲۰**).

▶ **شکل ۱۳-۲۰** روش تحقیق

RT-PCR برای بررسی بیان ژن‌های منفرد

کاربرد: RT-PCR از آنزیم رونوشت‌بردار معکوس همراه با RCR و الکتروفورز در ژل استفاده می‌کند. RT- PCR می‌تواند برای مقایسهٔ بیان ژن بین نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. برای مثال در مراحل مختلف جنینی، در بافت‌های مختلف یا در یک نوع سلول تحت شرایط متفاوت.

روش: در این مثال، نمونه‌های حاوی mRNA مربوط به شش مرحلهٔ جنینی مرغ مگس همان‌طورکه در پایین نشان داده شده است، پردازش می‌شوند. (اینجا فقط mRNA مربوط به یک مرحله نشان داده شده است.)



*(۱) **ساخت cDNA.** mRNA را در معرض آنزیم رونوشت بردار معکوس و سایر اجزای ضروری قرار می‌دهند.*

*(۲) **تکثیر PCR.** تکثیر PCR نمونه با استفاده از پرایمر اختصاصی برای ژن بتاـگلوبین مرغ مگس انجام می‌شود.*

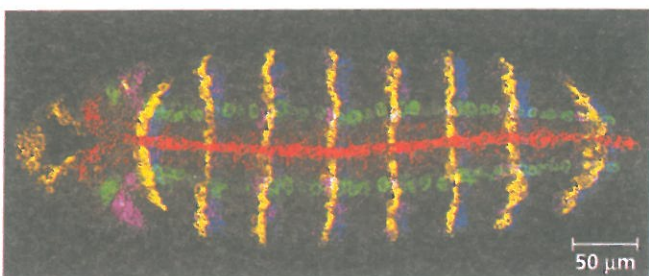
(۳) الکتروفورز در ژل. الکتروفورز در ژل، محصولات DNA تکثیریافته را فقط در نمونه‌هایی که حاوی mRNA رونویسی‌شده از ژن بتاـگلوبین بودند نشان می‌دهد.

نتایج: mRNA این ژن اولین‌بار در مرحلهٔ ۲ و پس از آن تا مرحلهٔ ۶ بیان می‌شود. اندازهٔ قطعهٔ تکثیر یافته به فاصلهٔ بین پرایمرهایی که استفاده شده بودند بستگی دارد.

مطالعهٔ بیان گروه‌هایی از ژن‌های برهمکنش‌کننده

یکی از مهم‌ترین اهداف زیست‌شناسان درک چگونگی فعالیت ژن‌ها با یکدیگر، برای ایجاد یک جاندار فعال است. حال که تمامی ژنوم تعدادی از جانداران توالی‌یابی شده است می‌توان بیان تعداد زیادی از گروه‌های ژنی را مورد مطالعه قرار داد. محققان از این توالی‌ها برای تحقیق در مورد بیان ژن‌های مختلف در موقعیت‌های گوناگون مانند بافت‌های گوناگون یا در مراحل مختلف تکوین استفاده می‌کنند. آنها همچنین با هدف تعیین الگوهای کلی و مجموعه‌های بیانی، اقدام به شناسایی گروه‌های ژنی که به‌طور هماهنگ باهم بیان می‌شوند، می‌نمایند.

راهبرد اصلی برای مطالعهٔ بیان کلی ژن‌ها این است که RNAهای پیک تولیدشده در سلول‌های خاص را استخراج نموده، از آنها برای ساخت cDNA مربوطه به‌وسیلهٔ آنزیم نسخه‌بردار



▶ **شکل ۱۴-۲۰ تعیین محل بیان ژن‌ها با استفاده از آنالیز دورگه‌سازی درجا.** *این جنین دروزوفیلا در محلولی حاوی کاوشگرهای پنج mRNA متفاوت قرارگرفته است. هر کاوشگر با مادهٔ فلوئورسنتی با رنگ متفاوت نشان‌دار شده است. سپس جنین با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسنت بررسی می‌شود. هررنگ نشان می‌دهد که هر ژن خاص در کجا به‌صورت mRNA بیان می‌شود.*

1 - *In situ*
2 - *In situ* hybridization

معکوس استفاده کرد و سپس این مجموعه از cDNAها را با مجموعه قطعات DNA ژنومی مقایسه نمود. نتایج، گروه خاصی از ژن‌ها را در ژنوم مشخص می‌کنند که در یک زمان خاص یا تحت شرایط خاصی بیان می‌شوند. همراه با خودکارسازی روش‌ها، فن‌آوری DNA انجام چنین مطالعاتی را در مقیاس وسیع امکان‌پذیر ساخته است. اکنون دانشمندان بیان هزاران ژن را هم‌زمان ارزیابی می‌کنند.

درحال حاضر مطالعهٔ بیان ژن در مقیاس وسیع با استفاده از **ریزآرایهٔ DNA**[1] مقدور شده است. ریزآرایهٔ DNA متشکل از مقادیر کمی از قطعات مختلف DNA تک‌رشته‌ای بیانگر ژن‌های مختلف است که برروی یک اسلاید شیشه‌ای در یک آرایهٔ کاملاً منظم (گرید[2] یا شبکه) ثابت شده است (شکل ۱-۲۰ را ببینید). (آرایه را به دلیل شباهت با تراشهٔ کامپیوتری، *تراشهٔ DNA*[3] نیز می‌نامند). در حقیقت در مورد جاندارانی که ژنوم آنها به‌طور کامل توالی‌یابی شده است، این قطعات بیانگر کل ژن‌های یک جاندار است. **شکل ۱۵-۲۰** نشان می‌دهد که چگونه قطعات DNA روی ریزآرایه برای دورگه شدن با نمونه‌های cDNA حاصل از RNAهای پیک سلول‌های خاص که با رنگ‌های فلوئورسنت نشان‌دار شده‌اند، آزمایش می‌شوند.

با استفاده از این روش، محققان ریزآرایهٔ DNA را برای بیش از ۹۰ درصد ژن‌های نماتود *سینورابدیتیس الگانس*[4] در تمام مراحل چرخهٔ زندگی‌اش به‌کار گرفته‌اند. نتایج نشان داد که بیان حدود ۶۰ درصد از ژن‌ها به‌طور قابل توجهی در حین تکوین تغییر یافته و بیان بسیاری از آنها نیز وابسته به جنس می‌باشد. این مثال توانایی ریزآرایهٔ DNA را برای آشکارسازی الگوهای کلی بیان ژن در طول زندگی یک جاندار نشان می‌دهد.

روش ریزآرایهٔ DNA علاوه بر کشف برهمکنش بین ژن‌ها و فراهم‌سازی بستری برای شناخت عملکرد ژن، در درک بهتر بیماری‌های خاص و ایجاد شیوه‌های تشخیص یا درمانی جدید نیز سهیم می‌باشد. به‌طور مثال، مقایسهٔ الگوهای بیان ژن در تومور سرطان سینه و بافت غیرتوموری منجر به ایجاد راهکارهای درمانی مؤثر و مفیدی می‌گردد. در نهایت، داده‌های حاصل از روش‌های ریزآرایهٔ DNA می‌توانند بینش مناسب‌تری از نحوهٔ برهمکنش دسته‌های ژنی با یکدیگر برای ایجاد یک جاندار پویا را برای ما فراهم کنند.

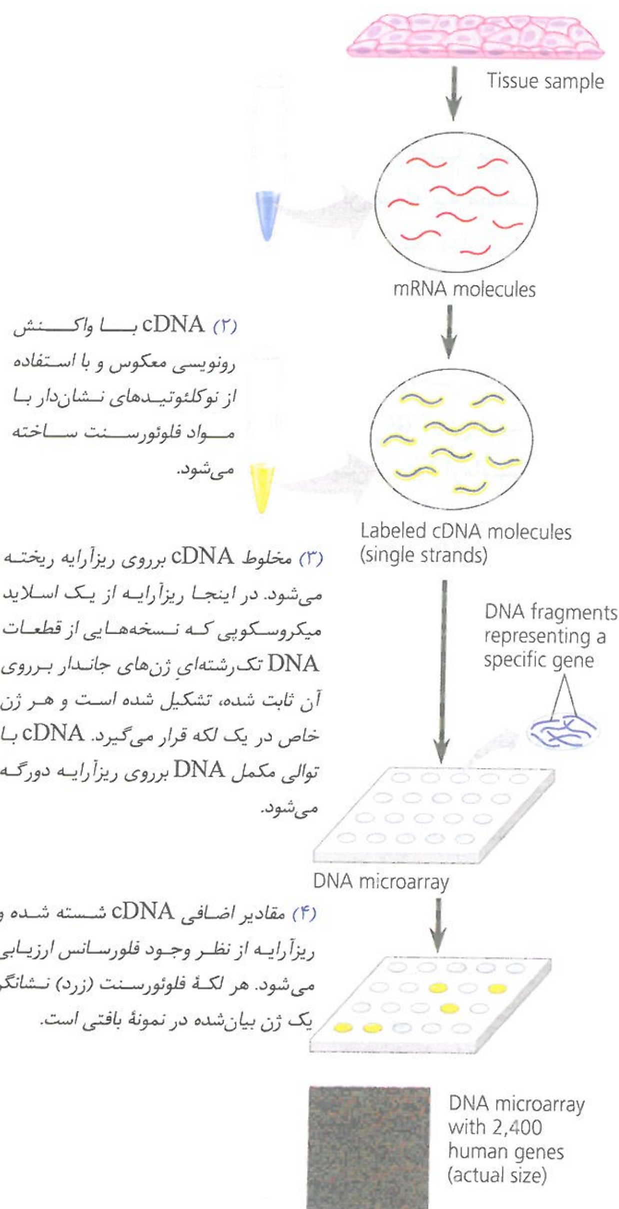
1 - DNA microarray assay
2 - Grid
3 - DNA chip
4 - *Caenorhabditis elegans*

شکل ۱۵-۲۰ روش تحقیق

روش ریزآرایهٔ DNA برای سنجش میزان بیان ژن‌ها

کاربرد: با این روش محققان می‌توانند هزاران ژن را به‌طور همزمان مورد ارزیابی قرار دهند تا تشخیص بدهند کدام‌یک در بافت خاص، تحت شرایط محیطی مختلف، در حالت‌های بیماری گوناگون و یا در مراحل مختلف تمایز بیان می‌شوند. همچنین آنها می‌توانند بیان هماهنگ ژن‌ها را بررسی کنند.

روش:



نتایج: شدت فلوئورسنت هر لکه معیاری از بیان ژن است که به‌وسیلهٔ آن لکه در نمونهٔ بافت مشخص می‌گردد. معمولاً دو نمونهٔ متفاوت همراه هم آزمایش می‌شوند و هر نمونه با یک نشانگر فلوئورسنت خاص نشاندار می‌گردد. رنگ‌های حاصل برروی لکه‌ها نشان دهندهٔ مقدار نسبی بیان ژن خاص در دو نمونه بوده که ممکن است از دو بافت مختلف یا یک بافت در شرایط مختلف به‌دست آمده باشد. (شکل ۱-۲۰ را برای اندازهٔ بزرگ‌تر ببینید.)

تعیین عملکرد ژن

دانشمندان چگونه «عملکرد» ژن‌هایی را که به‌وسیلهٔ روش‌های ذکر شده در این فصل شناسایی شدند، تعیین می‌کنند؟ شاید متداول‌ترین روش این باشد که ژن مورد نظر را از کار انداخته و سپس نتایج آن را برروی سلول یا جاندار بررسی نمایند. در یکی از کاربردهای این روش به‌نام **جهش‌زایی در آزمایشگاه**[1]، جهش‌های خاصی را به درون توالی یک ژن کلون شده وارد کرده و ژن جهش‌یافته را به سلول برمی‌گردانند. اگر جهش‌های واردشده فعالیت محصول ژن را تغییر داده یا تخریب کنند، فنوتیپ سلول جهش‌دار می‌تواند به آشکار ساختن فعالیت پروتئین از کارافتاده کمک شایانی نماید. محققان با استفاده از روش‌های مولکولی و ژنتیکی که در دههٔ ۱۹۸۰ ایجاد شدند، قادر به تولید موشی دارای هرگونه نقص ژنی مورد نظر هستند تا بدین‌وسیله به مطالعهٔ نقش آن ژن در نمو جنین و نیز در موش بالغ بپردازند. ماریو کاپیچی[2]، مارتین اوانس[3] و اولیور اسمیتیس[4] جایزهٔ نوبل پزشکی را در سال ۲۰۰۷ برای این کشف دریافت کردند.

یک روش ساده‌تر و سریع‌تر برای خاموش ساختن بیان ژن‌های خاص، استفاده از پدیدهٔ **مداخلهٔ RNA (RNAi)**[5] می‌باشد که در فصل ۱۸ شرح داده شده است. در این شیوهٔ آزمایشگاهی، از مولکول‌های RNA دورشته‌ای مصنوعی که مکمل قسمتی از یک ژن خاص هستند استفاده می‌شود که سبب تجزیه یا ممانعت از ترجمهٔ RNA پیک ژن می‌گردد. این روش همچنین در جاندارانی مانند نماتود و مگس سرکه در بررسی عملکرد ژن‌ها به میزان زیادی ارزش خود را نشان داده است. در مطالعه‌ای، از این روش برای جلوگیری از بیان ۸۶ درصد از ژن‌های جنین‌های ابتدایی نماتود، هر ژن در یک زمان، استفاده شده است. بررسی فنوتیپ کرم‌های تکوین‌یافته از این جنین‌ها به محققان امکان می‌دهد تا اکثر ژن‌ها را به تعداد مشخصی از گروه‌های عملکردی تقسیم کنند. این‌گونه ارزیابی‌های وسیع ژنومی برای شناخت فعالیت ژن‌ها چنان قابل اعتماد است که در تحقیقاتی که برروی اهمیت برهمکنش بین ژن‌ها در یک سیستم کامل (اساس زیست‌شناسی سیستم‌ها) انجام می‌گیرد، به‌طور بسیار متداول استفاده می‌شود (فصل ۲۱ را ببینید).

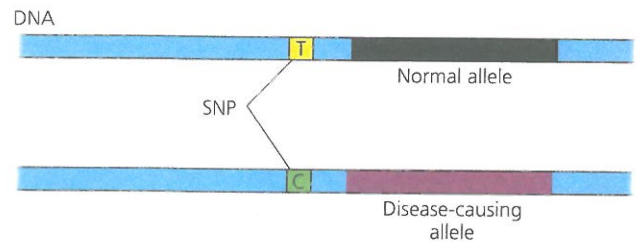
ملاحظات اخلاقی جلوی خراب کردن (knocking out) ژن‌های انسانی برای مطالعهٔ عملکردشان را می‌گیرد. یک روش دیگر، بررسی ژنوم تعداد زیادی انسان با شرایط فنوتیپی خاص یا یک بیماری به خصوص، مثل بیماری قلبی یا دیابت، و یافتن اختلافات مابین آنها و افرادی است که این شرایط را ندارند. این تحلیل‌های بزرگ‌مقیاس، **مطالعات ارتباطی در سطح ژنوم**[6]، نامیده می‌شوند؛ که نیازی به توالی‌یابی ژنوم تمام افراد هر دو گروه ندارد. در عوض، نشانگرهای ژنتیکی (توالی‌های DNAای در جمعیت که از خود تنوع نشان می‌دهند) را آزمایش می‌کنند. در یک ژن، همان‌گونه که در بیماری کم‌خونی داسی شکل دیدیم، این‌گونه تنوعات اساس الل‌های متفاوت هستند. مناطق DNA غیر رمزگذار در لوکوس خاصی روی یک کروموزوم نیز، دقیقاً مثل نواحی رمزگذار، ممکن است اختلافات و گوناگونی‌های نوکلئوتیدی کوچکی (پلی‌موفیسم‌ها) را در میان افراد به نمایش بگذارند.

در میان پرکاربردترین این نشانگرهای ژنتیکی می‌توان از گوناگونی جفت بازهای منفرد در ژنوم جمعیت انسانی نام برد. یک جایگاه جفت بازی منفرد که در آن تنوع دیده شود و در حداقل ۰/۱٪ از جمعیت یافت شود **چند شکلی تک‌نوکلئوتیدی**[7] (SNP که «Snip» تلفظ می‌شود) نامیده می‌شود. در ژنوم انسان چند میلیون SNP وجود دارد، یعنی یک جفت باز به ازای هر صد تا سیصد جفت باز در مناطق رمزگذار و غیر رمزگذار DNA. (همان‌گونه که در فصل ۲۱ خواهیم آموخت، حدود ۹۸/۵ درصد از ژنوم ما رمزی برای پروتئین ندارند). برای یافتن SNPها نیازی به تعیین توالی DNAی افراد متعدد نیست؛ بلکه امروزه به‌وسیلهٔ تجزیه و تحلیل‌های بسیار حساس ریز آرایه و یا به‌وسیلهٔ PCR تشخیص داده می‌شوند.

هرگاه منطقه‌ای که در آن SNP وجود دارد در افراد بیمار وجود داشته باشد اما افراد سالم فاقد آن باشند، محققان بر آن منطقه تمرکز کرده و آن را توالی‌یابی می‌کنند. در موارد بسیار زیاد، خود SNP نمی‌تواند باعث ایجاد بیماری شود و بسیاری از SNPها در مناطق غیررمزگذار واقعند. در عوض، اگر SNP و الل عامل ایجاد بیماری به اندازهٔ کافی به هم نزدیک باشند، دانشمندان می‌توانند از این واقعیت نتیجه بگیرند که کراسینگ اور بین نشانگر و ژن طی تولید گامت بسیار غیر محتمل و بعید بوده است. بنابراین، نشانگر و ژن اغلب با همدیگر به ارث می‌رسند، حتی با وجود اینکه نشانگر بخشی از ژن نیست (**شکل ۱۶-۲۰**). همبستگی SNPها با دیابت، بیماری قلبی و چندین نوع سرطان ثابت شده است و جستجو برای یافتن ژن‌هایی که شامل این مسأله می‌شوند نیز همچنان ادامه دارد.

روش‌ها و راه‌کارهای تجربی که تاکنون آموخته‌اید، مطالب بسیاری در مورد ژن‌ها و عملکرد تولیدات آنها در اختیار ما گذاشته‌اند. امروزه این تحقیقات DNA با به‌وجود آمدن روش‌های قدرتمند کلون کردن کامل جانداران پرسلولی، پیشرفت زیادی

1- *In vitro* mutagenesis
2- Mario Capecchi
3- Martin Evans
4- Oliver Smithies
5- RNA interference
6- Genome – wide association studies
7- Single nucleotide polymorphism



◀ شکل ۱۶-۲۰ **چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی برای الل‌های عامل بیماری.** *این نمودار قطعات مشابه DNA مربوط به دو گروه از افراد متفاوت را نشان می‌دهد، که یکی از این دو گروه دارای یک بیماری یا شرایط خاصی که اساس ژنتیکی دارد هستند. افراد سالم در یک لوکوس خاص SNP دارای T هستند و افراد بیمار در همان لوکوس نوکلئوتید C دارند. تفاوت SNP در این مورد، که تقریباً نزدیک به یک یا چند الل ژن‌های عامل بیماری هستند، نشان‌دهنده ارتباط آنها با بیماری است. (در اینجا فقط یک رشته از هر مولکول DNA نشان داده شده است)*

ارتباط دهید *مفهوم «پیوند نزدیک» داشتن SNP با الل عامل بیماری چیست؟ و این موضوع چگونه SNP را به‌عنوان نشانگر ژنتیکی معرفی می‌کند؟*

نموده‌اند. یک هدف این کار، به‌دست آوردن سلول‌های بنیادی است که می‌توانند به محققان امکان دهند تا از روش‌های بررسی DNA که تاکنون در مورد آنها بحث شد برای مطالعهٔ تمایز سلولی استفاده کنند. در سطوح پیشرفته‌تر، روش‌های DNA نوترکیب می‌توانند سلول‌های بنیادی را به نحوی تغییر دهند که برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند. روش‌های کلون کردن جانداران و تولید سلول‌های بنیادی موضوع مبحث بعدی هستند.

پرسش‌های مبحث ۲-۲۰

۱. فرض کنید الکتروفورز در ژل را برای نمونه‌ای از DNA ژنومی یک فرد که تحت عملکرد آنزیم‌های محدودکننده قرار گرفته است انجام می‌دهید و سپس ژل را با رنگ متصل‌شونده به DNA رنگ‌آمیزی می‌کنید. چه چیزی خواهید دید؟ توضیح دهید.

۲. نقش جفت شدن بازهای مکمل را در رشته‌های اسید نوکلئیکی در هر یک از روش‌های زیر توضیح دهید: لکه‌گذاری ساترن، توالی‌یابی DNA، لکه‌گذاری نورترن، RT-PCR و آنالیز ریزآرایه.

۳. بین SNP و یک RFLP تمایز قائل شوید.

۴. **چه می‌شد اگر؟** به ریزآرایهٔ موجود در شکل ۱-۲۰ که نسخهٔ بزرگ‌تر ریزآرایهٔ نشان داده شده در شکل ۱۵-۲۰ است توجه کنید. اگر نمونه‌ای که با رنگ فلوئورسنت سبز نشان‌دار شده است از بافت طبیعی و دیگری که با قرمز نشان‌دار شده است از بافت سرطانی باشد، لکه‌ای که سبز رنگ است چه چیزی را نشان می‌دهد؟ لکه‌های قرمز، زرد و سیاه چطور؟ با توجه به الگوهای بیانی آنها، اگر بخواهید سرطان را مطالعه کنید، کدام ژن‌ها را برای آزمایش انتخاب می‌کنید؟ توضیح دهید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۲۰ کلون کردن موجودات زنده ممکن است منجر به تولید سلول‌های بنیادی برای تحقیقات و کاربردهای دیگر شود

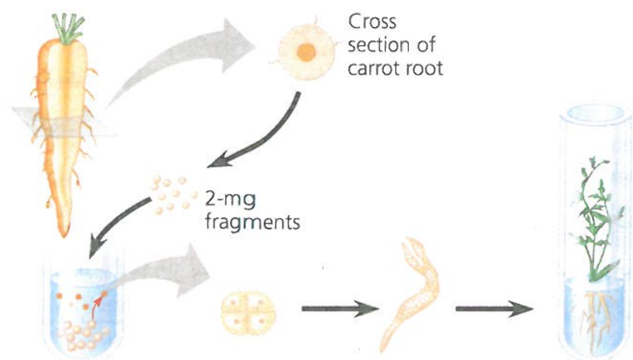
به موازات پیشرفت‌هایی که در فن‌آوری DNA رخ داده است، دانشمندان همچنین روش‌های جدیدی برای کلون کردن موجودات پرسلولی کامل از سلول‌های واحد ایجاد کرده‌اند. کلون کردن، یک یا تعداد بیشتری جاندار تولید می‌کند که از نظر ژنتیکی با «والد» خود که یک سلول اهدا کرده است، همسانند. این کار معمولاً «کلون کردن جاندار[1]» نامیده می‌شود تا از انواع دیگر کلون کردن، مانند کلون کردن ژن و کلون کردن سلول افتراق داده شود. در کلون کردن سلول، یک سلول غیرجنسی تقسیم می‌شود و گروهی از سلول‌های یکسان از نظر ژنتیکی را پدید می‌آورد. (ویژگی مشترک تمام انواع کلون کردن این است که محصول از نظر ژنتیکی با والد خود همسان است. در واقع کلمهٔ کلون از واژهٔ یونانی ***klon*** به معنی شاخهٔ کوچک گرفته شده است.) توجه زیادی که درحال حاضر به مقولهٔ کلون کردن جاندار می‌شود به علت توانایی بالقوهٔ آن در تولید سلول‌های بنیادی است، سلول‌هایی که می‌توانند انواع متفاوتی از بافت‌ها را تولید نمایند.

تلاش برای کلون کردن گیاهان و جانوران برای اولین‌بار ۵۰ سال قبل در تحقیقاتی برای پاسخ‌گویی به سؤالات پایهٔ زیستی، انجام شد. برای مثال، محققان می‌خواستند بدانند که آیا تمام سلول‌های یک جاندار ژن‌های برابری دارند (مفهومی که *تساوی ژنی*[2] نامیده می‌شد) یا اینکه سلول‌ها در طول مراحل تمایز، تعدادی از ژن‌هایشان را از دست می‌دهند (فصل ۱۸ را ببینید). یک راه برای پاسخ‌گویی به این سؤال این است که ببینیم آیا یک سلول تمایزیافته قادر است یک جاندار کامل تولید کند؟ به‌عبارت دیگر، آیا کلون کردن یک جاندار امکان‌پذیر است؟ بیایید قبل از بررسی پیشرفت‌های اخیر در زمینهٔ کلون کردن جاندار و تولید سلول‌های بنیادی، بعضی از این آزمایش‌های اولیه و ابتدایی را بررسی نماییم.

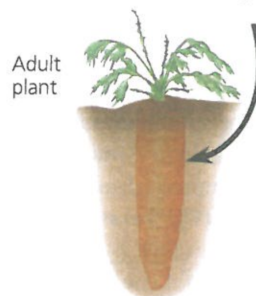
کلون کردن گیاهان: کشت‌های تک‌سلولی

کلون کردن موفق گیاهان کامل از سلول‌های منفرد تمایزیافته، در طول دههٔ ۱۹۵۰ توسط استوارد[3] و دانشجویانش در دانشگاه کورنل[4] روی گیاه هویج انجام شد (**شکل ۱۷-۲۰**). آنها متوجه شدند سلول‌های تمایزیافته‌ای که از ریشهٔ گیاه هویج گرفته شده و وارد

1- Organismal cloning
2- Genomic equivalence
3- F. C. Stward
4- Cornell University



نهال روی محیط آگار کشت داده می‌شود و سپس به خاک منتقل می‌گردد.	جنین گیاه از یک سلول منفرد کشت شده ایجاد می‌شود.	سلول‌های منفرد در سوسپانسیون شروع به تقسیم می‌کنند.	قطعات در محیط غذایی کشت داده می‌شوند، به هم‌زدن باعث جدا شدن سلول‌های منفرد در مایع می‌شود.



◀ **شکل ۱۷–۲۰ کلون کردن یک هویج کامل از یک سلول منفرد هویج**

محیط کشت شوند می‌توانند گیاهان بالغ طبیعی تولید کنند که هریک از نظر ژنتیکی با گیاه والد یکسانند. این نتایج نشان داد که تمایز لزوماً تغییرات غیرقابل برگشت در DNA ایجاد نمی‌کند. حداقل در گیاهان، سلول‌های بالغ می‌توانند تمایز خود را از دست بدهند و تمام انواع سلول‌های تخصصی جاندار را تولید کنند. هر سلولی که این توانایی را داشته باشد، یک سلول **همه‌توان**[1] نامیده می‌شود.

کلون کردن گیاهان امروزه به‌طور گسترده‌ای در کشاورزی استفاده می‌شود. برای بعضی گیاهان مانند ارکیده‌ها، کلون کردن از نظر اقتصادی تنها راه عملی برای تولیدمثل گیاه است. در موارد دیگر، کلون کردن برای تولید گیاهانی با ویژگی‌های ارزشمند، مانند مقاومت به پاتوژن‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است. در واقع خود شما هم ممکن است یک کلون‌کنندهٔ گیاهی باشید. اگر تا به حال یک گیاه جدید را از یک شاخهٔ بریده‌شده پرورش داده‌اید، در واقع کلون کردن را تمرین کرده‌اید!

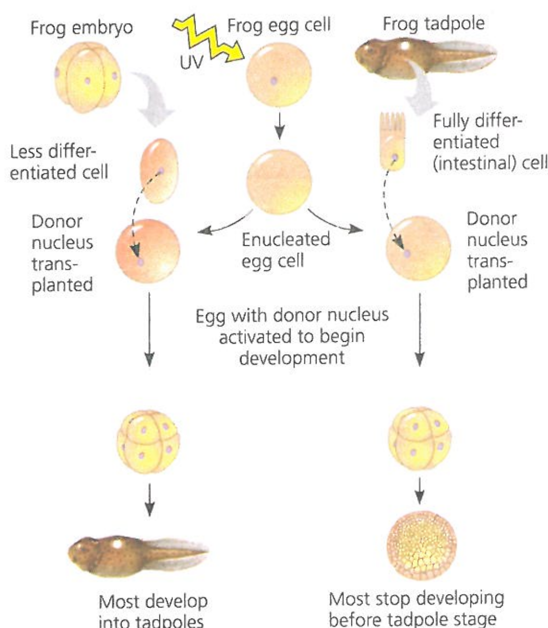
کلون کردن جانوران، پیوند هسته‌ای

سلول‌های تمایزیافتهٔ جانوران به‌طور معمول در محیط کشت تقسیم نمی‌شوند و نمی‌توانند به انواع مختلف سلولیِ یک جاندار جدید تبدیل گردند. بنابراین محققان باید روشی متفاوت به‌کار می‌بستند تا به این سؤال که آیا سلول‌های تمایزیافتهٔ جانوری می‌توانند همه‌توان باشند، پاسخ دهند. راهکار آنها این بود که هستهٔ یک تخمک بارور یا غیربارور را خارج کنند و آن را با هستهٔ یک سلول تمایزیافته، جایگزین نمایند، روشی که پیوند هسته‌ای[2]

◀ **شکل ۱۸–۲۰** روش تحقیق

آیا هستهٔ یک سلول تمایز یافتهٔ جانوری می‌تواند ایجاد یک جاندار کامل را هدایت کند؟

آزمایش: جان گوردون و همکارانش در دانشگاه آکسفورد در انگلیس هستهٔ تخمک قورباغه را با استفاده از اشعهٔ فرابنفش تخریب کردند. آنها سپس هستهٔ سلول‌های جنین و نوزاد قورباغه را به تخمک‌های بدون هسته پیوند زدند.



نتایج: هنگامی‌که هستهٔ پیوند زده شده از یک جنین جوان، که سلول‌های نسبتاً غیر تمایز یافته‌ای هستند، گرفته شود، اغلب تخم‌های گیرنده به بچه قورباغه تبدیل می‌شوند. اما هنگامی‌که این هسته از سلول‌های روده‌ای کاملاً تمایز یافتهٔ یک بچه قورباغه گرفته شود، کمتر از ۲٪ تخم‌ها به بچه قورباغه‌های طبیعی تبدیل شده و نمو بیشتر جنین‌ها در مراحل بسیار ابتدایی نمو متوقف می‌شود.

نتیجه‌گیری: هستهٔ گرفته شده از یک سلول تمایز یافتهٔ قورباغه می‌تواند تا تبدیل شدن به یک بچه قورباغه پیش برود. اماّ به‌خاطر تغییراتی در هسته، توانایی‌اش در این چنین تغییراتی، همچنان‌که سلول دهنده تمایزیافته‌تر می‌شود، کاهش می‌یابد.

منبع:

چه می‌شد اگر؟ اگر هرکدام از سلول‌های جنین چهار سلولی آنقدر تخصصی بود که دارای قدرت تولید موجود نبود، برای آزمایش سمت چپ شکل چه نتایجی را پیش‌بینی می‌کردید؟

1- Totipotent

2- Nuclear transplantation

نامیده می‌شود. اگر هستهٔ سلول تمایزیافته بتواند تمام توانایی ژنتیکی خود را بازیابد، قادر خواهد بود تا تکوین سلول را به سوی بافت‌ها و اندام‌های یک جاندار هدایت کند.

چنین آزمایش‌هایی توسط روبرت بریج[1] و توماس کینگ[2] در دههٔ ۱۹۵۰ و توسط جان گوردون[3] در دههٔ ۱۹۷۰ روی قورباغه‌ها انجام شدند. این محققان یک هسته از سلول‌های جنین یا نوزاد قورباغه را به یک سلول تخمک بدون هستهٔ همان‌گونه، منتقل کردند. در آزمایش‌های گوردون، هستهٔ پیوندیافته اغلب قادر بود تا تکوین طبیعی تخم به نوزاد قورباغه را هدایت نماید (**شکل ۱۸-۲۰**). او متوجه شد که توانایی هستهٔ پیوندی برای هدایت تکوین طبیعی، ارتباط معکوس با سن اهداکنندهٔ هسته دارد: یعنی هر چه هستهٔ اهدایی مسن‌تر باشد، درصد کمتری از سلول‌ها به نوزاد قورباغهٔ طبیعی تبدیل می‌شوند.

گوردون از این دست‌آوردها نتیجه گرفت که چیزی در هسته در طول تمایز سلول‌های جانوری تغییر می‌کند. در قورباغه‌ها و بیشتر جانوران دیگر، هر چه تکوین جنینی و تمایز سلولی پیشرفت می‌کند توانایی هسته محدود و محدودتر می‌شود.

کلون کردن تولیدمثلیِ پستانداران

علاوه بر کلون کردن قورباغه‌ها، محققان برای مدت زیادی قادر به کلون کردن پستانداران با استفاده از هسته یا سلول‌های حاصل از جنین‌های ابتدایی بوده‌اند. ولی مشخص نبود که هستهٔ یک سلول کاملاً تمایزیافته بتواند دوباره برنامه‌ریزی شود و به‌عنوان یک هستهٔ پیوندی عمل کند. در سال ۱۹۹۷ محققان اسکاتلندی، تیتر روزنامه‌ها را به خود اختصاص دادند. آنها اعلام کردند که دالی[4]، برهٔ کلون‌شده از گوسفند بالغ، به‌وسیلهٔ پیوند هسته‌ای از یک سلول تمایزیافته، متولد شده است (**شکل ۱۹-۲۰**). این محققان از طریق کشت دادن سلول‌های پستانی در یک محیط کشت با مواد مغذی بسیار کم، توانسته بودند تا تمایز هستهٔ اهدایی را از بین ببرند. آنها سپس این سلول‌ها را با تخمک بدون هستهٔ گوسفند ترکیب کردند. سلول‌های دیپلوئید حاصل از این عمل، تقسیم شدند و جنین‌های ابتدایی را شکل دادند. این جنین‌ها سپس به بدن مادرهای جانشینی منتقل شدند. از چند صد جنین پیوند زده شده، یکی توانست مراحل تکوین طبیعی را به پایان برساند و به این شکل دالی متولد شد.

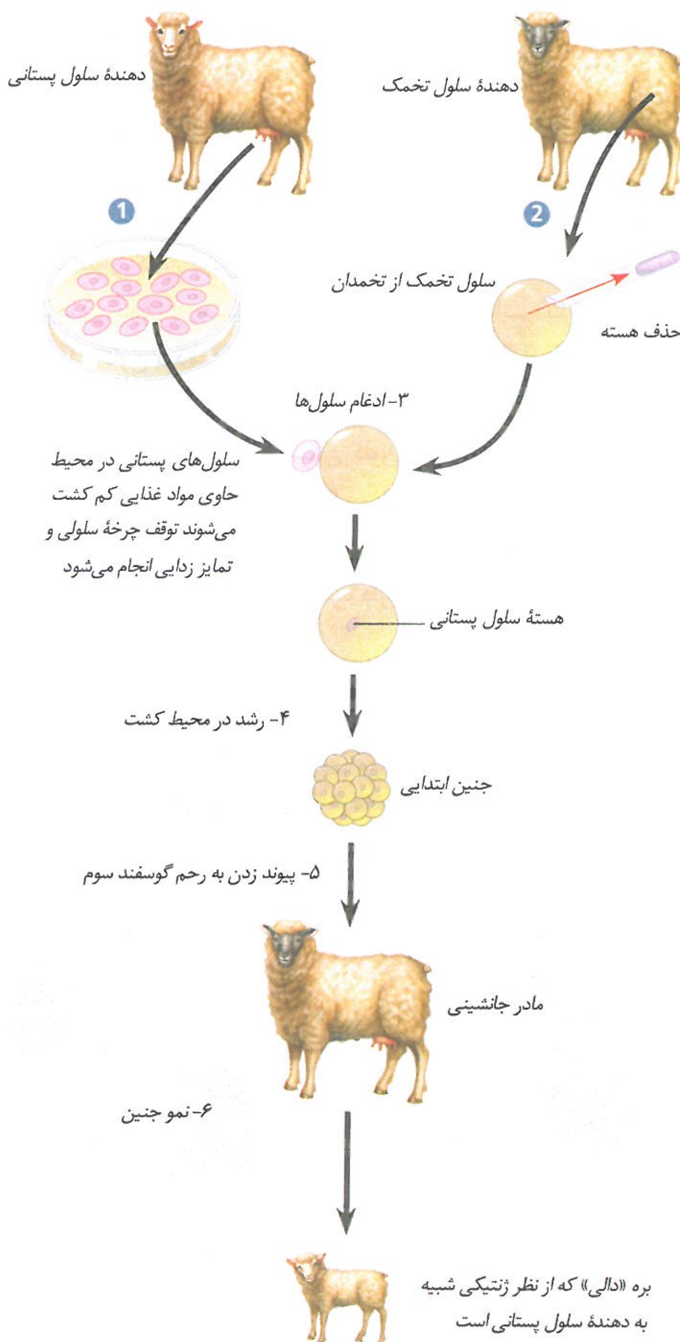
1- Robert Briggs
2- Thomas King
3- John Gurdon
4- Dolly

شکل ۱۹-۲۰ روش تحقیق

کلون کردن تولیدمثلی یک پستاندار با پیوند هسته‌ای

کاربرد: این روش برای تولید جانوران کلون شده‌ای استفاده می‌شود که ژن‌های هسته‌ای‌شان از ژن‌های هسته‌ای حیوان‌دهند گرفته شده است.

روش: این شکل فرایند تولید دالی، اولین نمونهٔ گزارش شدهٔ یک کلون پستاندار با استفاده از هسته‌های یک سلول تمایز یافته، را نشان می‌دهد.



نتایج: ترکیب ژنتیکی جانور کلون شده مشابه حیوانی است که هسته را تأمین کرده و با جانور دهندهٔ تخمک و مادر جایگزینی تفاوت دارد. (دو گوسفند آخر گونهٔ «سیه چهره اسکاتلندی» هستند که صورتی سیاه دارند).

بررسی‌های بعدی نشان داد کـه DNAی کرومـوزومی دالـی در واقع با DNAی هستهٔ اهدایی یکسان بود (ولی همان‌طور که انتظار می‌رفت DNAی میتوکندریایی دالی مشابه سلول تخم اهدایی بود). دالی در سال ۲۰۰۳، در سن ۶ سالگی دچار عـوارض یـک بیمـاری ریوی شد که معمولاً تنها در گوسفندهای پیرتـر دیـده مـی‌شـود و بنابراین به زندگی‌اش پایان داده شد. مرگ زودرس دالـی و وضـعیت التهاب مفصلی که داشت این فکر را برانگیخت که سـلول‌هـایش بـه سالمی سلول‌های گوسفندان طبیعی نبودند و احتمـالاً برنامـه‌ریـزی دوبارهٔ هستهٔ پیوندی اولیه به‌طور کامل انجام نشده بود.

از سال ۱۹۹۷ محققان تعداد بسیار زیـادی از پـستانداران دیگـر مانند موش، گربه، گاو، اسب، خوک، قاطر و سگ‌ها را کلون کرده‌اند. در بیشتر موارد، هدف آنها تولید یک فرد جدید بوده اسـت، چیـزی که به‌عنوان *کلون کردن تولیـدمثلی*[1] شـناخته مـی‌شـود. مـا تـاکنون چیزهای زیادی از چنـین آزمـایش‌هـایی آموختـه‌ایـم. بـرای مثـال، جانوران کلون شده از گونه‌های یکسان لزوماً همیشه از نظر ظـاهری یا رفتاری یکسان نیستند. در یـک دسـته از گاوهـا کـه از یـک رده سلول‌های کشت داده شدهٔ یکسان کلون شدند، بعضی رفتار غالـب و بعضی رفتار مطیع‌تری داشتند. یک مثال دیگـر بـرای عـدم تـساوی کلون‌ها، اولین گربهٔ کلون شده به‌نام CC اسـت (**شـکل ۲۰-۲۰**). او شکل مشابهی با تنها والد مادهٔ خود دارد ولی رنگ و الگوی خطـوط بدنش متفاوت است.این بـه‌علـت غیرفعـال شـدن تـصادفی یکـی از کروموزوم‌های X است که به‌طور طبیعی در طول تکوین جنینی رخ می‌دهد (شـکل ۸-۱۵ را ببینیـد). همـین‌طـور دوقلوهـای همـسان انسانی که کلون‌های طبیعی هستند همیشه کمی متفاوتند. بـه‌طـور واضح، اثرات محیطی و حوادث اتفاقی، نقش مهمی در طول تکـوین ایفا می‌کنند.



◀ شکل ۲۰-۲۰ CC، اولین گربهٔ کلـون شـده و تنهـا والـد آن. *Rainbow (چپ) در فرایند کلون کردن هسته‌ای اهدا کرد کـه نتیجـهٔ آن CC (راسـت) است. به‌هرحال، دو گربه یکسان نیستند. Rainbow یک گربهٔ کالیکو متداول با لکـه‌هـای نارنجی روی بدنش است که یک شخصیت منزوی دارد، درحالی‌که CC پوشش خاکستری و سفید دارد و بازیگوش‌تر است.*

کلون کردن موفـق بـسیاری از پـستانداران، فکـر کلـون کـردن انسان‌ها را برانگیخته است. دانشمندان در آزمایشگاه‌های مختلفی در اطراف جهان دست به انجـام مراحـل ابتـدایی ایـن کـار زده‌انـد. در شایع‌ترین روش، هستهٔ سلول‌های تمایزیافتهٔ انسانی وارد سلول‌هـای تخمک غیربارور بدون هسته شده و سلول‌ها تحریک به تقسیم شدن می‌شوند. در سال ۲۰۰۱، یـک گروه تحقیقاتی در ماساچوست تعـداد کمی تقسیمات سلولی در آزمـایش خـود یافتنـد. چنـد سـال بعـد، محققان کرهٔ جنوبی اعلام کردند که توانسته‌اند جنین‌ها را تا مرحلـهٔ اولیهٔ بلاستوسیست کلون کنند. اما بعداً دانشمندان به عنوان جاعـل و داده‌ساز مقصر شـناخته شـدند. در سـال ۲۰۰۷، اولـین جنـین از پستانداران اولیه (نوعی میمون) توسط محققان مرکز ملی تحقیقـات پستانداران اولیه (نخستی‌ها)ی اورگـان کلـون شـد. ایـن کلـون بـه مرحلهٔ بلاستوسیست رسیدند. این دسـتاوردها زمینـهٔ کلـون کـردن انسان را یک مرحله جلوتر بردند. چشم‌انـدازی کـه مـسائل اخلاقـی بی‌نظیری را به‌وجود آورده است.

مشکلات مرتبط با کلون کردن جانوران

در بیشتر مطالعات پیوند هسته‌ای که تا الان انجام شده‌اند، تنهـا درصد کمی از جنین‌های کلون شده به‌طور طبیعی تا تولـد، تکـوین می‌یابند. بسیاری از جانوران کلون شده مانند دالی، نقص‌هایی دارند. برای مثال، موش‌های کلون شده مستعد چـاقی، پنومـونی، نارسـایی کبد و مرگ زودرس هستند. محققان عقیـده دارنـد حتـی جـانوران کلون شده‌ای که طبیعی بـه نظر مـی‌رسـند ممکـن اسـت نقـایص ظریفی داشته باشند.

در سال‌های اخیر، ما شروع به شناسایی دلایل کارآیی کم کلـون کردن و وقوع بالای موارد غیرطبیعی نموده‌ایم. در هستهٔ سلول‌هـای کـاملاً تمایزیافتـه، مجموعـهٔ کـوچکی از ژن‌هـا روشـن هـستند، درحالی‌که بیان بقیه سرکوب می‌شود. این تنظیمات اکثـراً ناشـی از تغییـرات اپـی‌ژنتیـکِ کرومـاتین، ماننـد استیلاسـیون هیـستون یـا متیلاسیون DNA هستند (شکل ۷-۱۸ را ببینید). در طول مراحـل انتقال هسته، بسیاری از این تغییرات باید در هستهٔ جانور دهنده که در مراحل انتهایی است، معکوس شوند تا ژن‌ها بتوانند به درستی در مراحل ابتدایی تکوین، بیـان یـا سـرکوب گردنـد. محققـان متوجـه

1- Reproductive cloning

شده‌اند که DNAی سلول‌های جنینیِ کلون‌شده، مانند DNAی سلول‌های تمایزیافته، اغلب نسبت به DNAی سلول‌های مشابه در جنین‌های کلون‌نشدهٔ همان‌گونه، گروه‌های متیل بیشتری دارد. این یافته نشان می‌دهد که برنامه‌ریزی مجدد هستهٔ اهدایی، نیاز به تغییرشکل کروماتین دارد که در طول مراحل کلون کردن به‌طور کامل انجام نمی‌شود. از آنجایی‌که متیلاسیون DNA به تنظیم بیان ژن کمک می‌کند، قرارگیری نابجای گروه‌های متیل روی DNA هسته‌های اهدایی ممکن است با الگوی مورد نیاز برای تکوین طبیعی جنینی تداخل کند. در واقع موفقیت یک تلاش کلون کردن به مقدار زیادی بستگی به این دارد که ساختار کروماتینی هستهٔ اهدایی بتواند مانند هستهٔ یک تخم تازه‌بارور، بازآرایی شود.

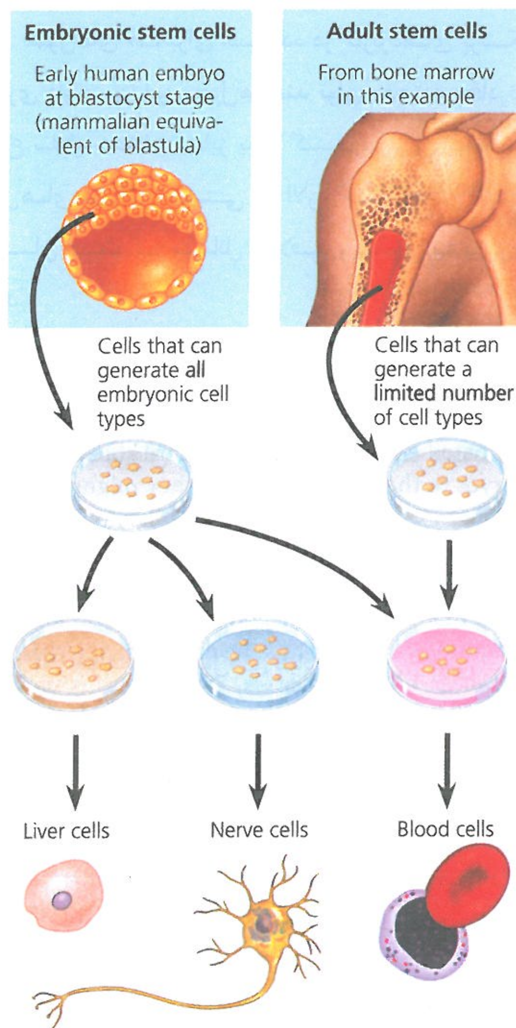
سلول‌های بنیادی جانوران

هدف اصلی کلون کردن جنین‌های انسانی تولیدمثل نیست، بلکه تولید سلول‌های بنیادی برای درمان بیماری‌های انسان می‌باشد. یک **سلول بنیادی**[1]، یک سلول نسبتاً اختصاصی‌نشده است که می‌تواند به‌طور نامحدود تکثیر شود، و تحت شرایط مناسب، به یک یا چند نوع سلول‌های اختصاصی تمایز یابد. بنابراین سلول‌های بنیادی می‌توانند هم جمعیت خودشان را افزایش دهند و هم سلول‌هایی را تولید کنند که وارد مسیرهای تمایزی خاص شوند.

بسیاری از جنین‌های ابتدایی جانوری، حاوی سلول‌های بنیادی هستند که می‌توانند هر نوع سلول‌های جنینی تمایزیافته را تولید کنند. سلول‌های بنیادی را می‌توان از جنین ابتدایی در مرحله‌ای به‌نام بلاستولا که در انسان همان مرحلهٔ بلاستوسیست است، جداسازی نمود (**شکل ۲۱-۲۰**). در محیط کشت، این *سلول‌های بنیادی جنینی (ES)*[2] به‌صورت غیراختصاصی تکثیر پیدا می‌کنند اما می‌توانند براساس شرایط محیط کشت، به طیفی از سلول‌های اختصاصی حتی تخمک و اسپرم تبدیل شوند.

بدن افراد بالغ نیز سلول‌های بنیادی دارد که می‌توانند در صورت نیاز، سلول‌های اختصاصی غیرتکثیرشونده را ایجاد کنند. برعکس سلول‌های ES، سلول‌های بنیادی بالغین نمی‌توانند «تمام» انواع سلولی جاندار را تولید کنند ولی قادرند انواع مختلفی را ایجاد نمایند. برای مثال، یکی از چندین نوع سلول بنیادی موجود در مغز استخوان می‌تواند تمام انواع سلول‌های خونی را تولید کند (شکل ۲۱-۲۰ را ببینید)، درحالی‌که دیگری می‌تواند به استخوان، غضروف، چربی، ماهیچه و سلول‌های عروق خونی تمایز پیدا کند.

باعث شگفتی است که مشخص شده است مغز انسان دارای سلول‌های بنیادی است که به تولید انواع خاصی از سلول‌های عصبی ادامه می‌دهند. به‌تازگی محققان کشف سلول‌های بنیادی را در پوست، مو، چشم و ریشهٔ دندان گزارش نموده‌اند. با وجود اینکه جانوران بالغ فقط تعداد کمی سلول‌های بنیادی دارند، محققان درحال یافتن راه‌هایی برای شناسایی و جداسازی این سلول‌ها از بافت‌های مختلف و در بعضی موارد، رشد دادن آنها در محیط کشت هستند. اگر شرایط محیط کشت مناسب باشد (برای مثال اضافه کردن فاکتورهای رشد خاص)، سلول‌های بنیادی کشت داده شده از جانوران بالغ می‌توانند به انواع مختلفی از سلول‌های اختصاصی تمایز پیدا کنند.



▶ **شکل ۲۱-۲۰ کار با سلول‌های بنیادی.** *سلول‌های بنیادی جانوری که می‌توانند از جنین‌های ابتدایی یا بافت‌های بالغ جدا شوند و در محیط کشت رشد نمایند، سلول‌های نسبتاً تمایزنیافته‌ای هستند. سلول‌های بنیادی جنینی آسان‌تر از سلول‌های بنیادی بالغین رشد می‌کنند و به‌صورت تئوریک می‌توانند به تمام انواع سلول‌های یک جاندار تبدیل شوند. طیف انواع سلولی که می‌توانند از سلول‌های بنیادی بالغین تشکیل شوند هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است.*

1- Stem cell
2- Embryonic stem (ES) cells

تحقیقات روی سلول‌های بنیادی جنینی یا بالغین، منبعی برای اطلاعات ارزشمند دربارهٔ تمایز هستند و توانایی‌های بالقوهٔ وسیعی برای کاربردهای پزشکی دارند. هدف نهایی، به‌کارگیری این سلول‌ها برای ترمیم اعضای آسیب‌دیده یا بیمار است. مثال آن، سلول‌های پانکراسی تولیدکنندهٔ انسولین برای بیماران دیابتی یا انواع سلول مغزی برای بیماران پارکینسون یا هانتینگتون است. سلول‌های بنیادی بالغین موجود در مغز استخوان، مدت زیادی است که به‌عنوان منبعی برای سلول‌های سیستم ایمنی در بیمارانی که سیستم ایمنی خودشان به علت بیماری‌های ژنتیکی یا اشعه‌درمانی سرطان غیرکارآمد است، استفاده می‌شوند.

توان تکوینی سلول‌های بنیادی بالغین به بافت‌های خاص، محدود است. سلول‌های ES برای استفاده در کاربردهای پزشکی توانایی بیشتری دارند زیرا این سلول‌ها **چند توان**[1] هستند و قادرند به چندین نوع سلول مختلف تمایز پیدا کنند. تنها راه به‌دست آوردن سلول‌های بنیادی جنینی تا الان، جدا کردن آنها از جنین‌های انسان است که مسائل اخلاقی و قانونی بسیاری را مطرح می‌کند.

درحال حاضر، سلول‌های بنیادی جنینی از جنین‌های اهداشده توسط بیمارانی که تحت درمان ناباروری هستند یا از کشت طولانی‌مدت سلول‌های جداشده از جنین‌های اهدایی به‌دست می‌آیند. اگر دانشمندان بتوانند جنین‌های انسانی را تا مرحلهٔ بلاستوسیست کلون کنند، می‌توانند از این کلون‌ها به‌عنوان منبعی برای سلول‌های بنیادی در آینده استفاده کنند. به‌علاوه اگر از هستهٔ اهدایی فردی با یک بیماری خاص استفاده شود، دانشمندان قادر خواهند بود سلول‌های بنیادی جنینی خاصی برای درمان تولید کنند که با بیمار مطابقت داشته و بنابراین توسط سیستم ایمنی وی پس زده نشوند. زمانی‌که هدف اصلی کلون کردن، تولید سلول‌های بنیادی جنینی برای درمان باشد، این فرایند *کلون کردن درمانی*[2] نامیده می‌شود. با اینکه بیشتر مردم معتقدند کلون کردن تولیدمثلی انسان‌ها غیراخلاقی است، نظرها در مورد اخلاقی بودن کلون کردن درمانی متفاوت است.

اگر بتوان سلول‌های بنیادی جنینی را با به عقب برگرداندن ساعت سلول‌های کاملاً تمایز یافته به‌دست آورد، این بحث‌های اخلاقی کمتر خواهند شد. انجام این کار که تنها تا چند سال قبل موانع زیادی داشت ممکن است درحال حاضر قابل دسترس باشد. در سال ۲۰۰۷ سه گروه تحقیقاتی اعلام کردند که توانسته‌اند سلول‌های پوست موش را به سلول‌های بنیادی جنینی تبدیل کنند و این‌کار را با وادار کردن این سلول‌ها به بیان چهار ژن تنظیمی اساسی سلول‌های بنیادی انجام داده‌اند. این محققان از رتروویروس‌ها به‌عنوان وکتور برای وارد کردن کپی‌های کلون شدهٔ این ژن‌ها به درون سلول‌های پوستی استفاده نمودند. تمام آزمایش‌هایی که تا این زمان انجام شده است نشان می‌دهد این سلول‌ها که *سلول‌های بنیادی چند توان القا شده (iPS)*[3] نامیده می‌شوند، تمام توانایی‌های سلول‌های بنیادی جنینی را دارا هستند. با این وجود، چندین گروه تحقیقاتی، اخیراً تفاوت‌هایی میان iPS و سلول‌های ES در بیان ژن و سایر عملکردهای سلولی، مثل تقسیم سلولی، را کشف کرده‌اند. حداقل تا زمانی‌که این تفاوت‌ها کاملاً شناخته و درک بشوند، مطالعهٔ سلول‌های ES بخش مهمی از پیشرفت روش‌های درمانی به‌وسیله سلول‌های بنیادی خواهد بود. (در واقع سلول‌های ES همیشه کانون تحقیقات پایه بوده‌اند). در ضمن، استفاده از سلول‌های iPS نیز در دست اجراست.

دو مورد استفادهٔ بالقوه و اصلی برای سلول‌های iPS انسانی وجود دارد. نخست، سلول‌های جدا شده از بیمارانی که از بیماری رنج می‌برند برای تبدیل شدن به iPS دوباره برنامه‌ریزی می‌شوند. سلول‌های iPS می‌توانند به عنوان سلول‌های نمونه برای مطالعهٔ بیماری و درمان‌های ممکن و بالقوهٔ آن مورد استفاده قرار بگیرند. رده‌های سلولی iPS انسانی از بیمارانی با دیابت نوع ۱، بیماری پارکینسون و حداقل دوازده بیماری دیگر جدا شده است. دوم، و در زمینهٔ طب احیاءکننده، سلول‌های خود بیمار می‌تواند برای تبدیل شدن به iPS دوباره برنامه‌ریزی شده و برای جایگزینی با بافت غیر کارا استفاده شود (**شکل ۲۲-۲۰**). ابداع روش‌هایی برای تبدیل سلول‌های iPS به انواع خاص سلولی برای این منظور، موضوع مورد علاقهٔ بسیاری از محققان است به‌طوری‌که تا کنون موفقیت‌هایی نیز در این زمینه دیده شده است. سلول‌های iPS تولید شده با این روش‌ها ناگهان سلول‌های «جایگزین» مناسبی را، بدون استفاده از تخمک یا جنین انسانی، ایجاد کردند، پس مخالفت‌ها و اعتراضات اخلاقی را نیز از بین بردند.

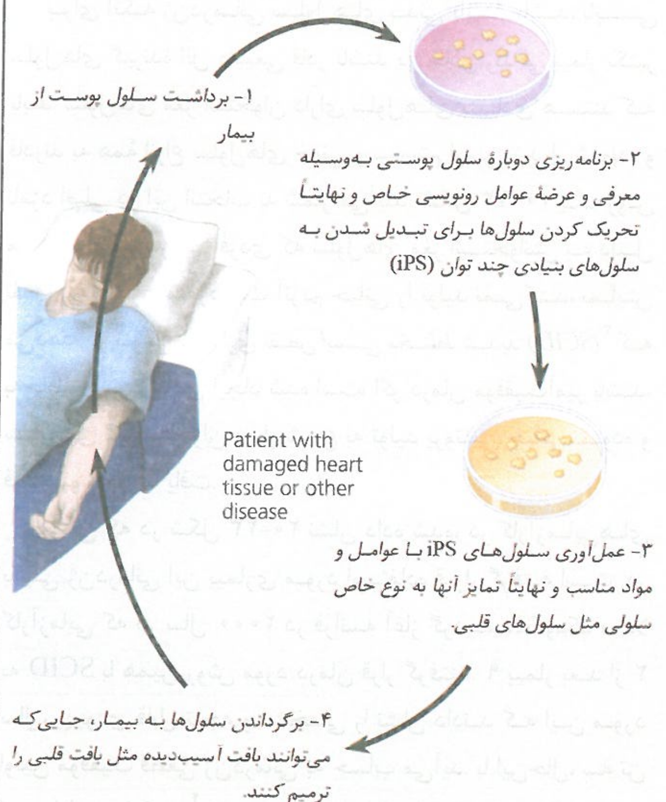
1- Pluripotent
2- Therapeutic
3- Induced pluripotent stem (iPS) cells

شکل ۲۲-۲۰ **تحقیق**

تأثیر سلول‌های بنیادی چند توان (iPS) بر طب احیاء کننده

چون سلول‌های بنیادی جنینی توانایی تولید هر نوع سلولی را در اندام دارند، استفاده از جنین‌های انسانی به عنوان منابع سلول‌های بنیادی انسانی بسیار بحث‌انگیز است. چندین گروه تحقیقاتی شیوه‌های مشابهی برای برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های کاملاً تمایز یافته و تبدیل آنها به سلول‌های بنیادی چند توان، را ابداع کرده‌اند، که مثل سلول‌های بنیادی معمولی عمل می‌کنند. این روش براساس معرفی و عرضهٔ عوامل رونویسی است که ویژهٔ تبدیل سلول‌های بنیادی به سلول‌های تمایز یافته‌ای مثل سلول‌های پوستی هستند.

چرا این موضوع اهمیت دارد: بیمارانی مثل بیماران دیابتی، قلبی و آلزایمری می‌توانند از سلول‌های پوستی خودشان، که برای تبدیل شدن به سلول‌های بنیادی چند توان دوباره برنامه‌ریزی شده است، استفاده کنند. وقتی روش‌هایی برای تبدیل iPSها به سلول‌های قلبی، پانکراسی و یا سلول‌های دستگاه عصبی ابداع شدند که بیماران می‌توانند از سلول‌های خودشان برای درمان بیماری‌شان استفاده کنند. این روش به‌طور موفقیت‌آمیزی در درمان کم‌خونی داسی شکل در موشی که با مهندسی ژنتیک به این بیماری مبتلا شده بود استفاده شده است. تصویر زیر چگونگی عملکرد اینگونه روش درمانی را در انسان نشان می‌دهد. محققان می‌آموزند که سلول‌های iPS چگونه، همان‌طوری که مد نظر است، برای تمایز یافتن تحریک می‌شوند (مرحله ۳).



چه می‌شد اگر؟ هنگامی‌که اندام‌ها از یک دهنده به یک گیرندهٔ بیمار پیوند زده می‌شود، دستگاه ایمنی گیرنده ممکن است اندام پیوندی را پس بزند که می‌تواند عواقب بسیار جدی و کشنده‌ای داشته باشد. آیا استفاده از سلول‌های iPS تبدیل شده نیز همین خطرات را به همراه خواهد داشت؟ چرا بله و چرا خیر؟

پرسش‌های مبحث ۳-۲۰

۱. براساس دانسته‌های جاری، علت اختلاف موجود در درصد بچه قورباغه‌هایی که از دو نوع هستهٔ دهنده به‌وجود آمده‌اند را در شکل ۱۸-۲۰ توضیح دهید؟

۲. **ارتباط دهید** یک هویج را کلون کنید، آیا تمام گیاهان حاصل ظاهر مشابهی خواهند داشت؟ چرا؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** اگر شما پزشکی بودید که قصد داشتید از سلول‌های iPS برای درمان بیماری با دیابت نوع ۱ استفاده کنید، چه روش‌های جدیدی باید توسعه می‌یافتند؟

۴. **ارتباط دهید** یک سلول منفرد هویج در شکل ۱۷-۲۰ و یک سلول تمایز یافتهٔ ماهیچه‌ای در شکل ۱۸-۱۸ را بر اساس استعداد آنها برای تبدیل شدن به انواع مختلف سلولی، با هم مقایسه کنید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۴-۲۰ کاربردهای عملی فن‌آوری DNA به شیوه‌های بسیاری زندگی ما را متأثر می‌سازد

هر روز خبرهای جدیدی از فن‌آوری DNA در اخبار شنیده می‌شود. اغلب، موضوع خبر یک کاربرد جدید و رضایت‌بخش از این فن‌آوری در پزشکی است اما این تنها یکی از حیطه‌هایی است که از فن‌آوری DNA و مهندسی ژنتیک سود برده می‌شود.

کاربردهای پزشکی

یک مزیت بارز فن‌آوری DNA، شناسایی ژن‌هایی است که جهش در آنها نقش مهمی در بیماری‌های ژنتیکی ایفا می‌کند. این کشفیات در چنین مواقعی ممکن است منجر به ابداع روش‌های تشخیصی، درمانی و حتی پیشگیری شود. همچنین فن‌آوری DNA در شناخت ما از بیماری‌های غیرژنتیکی مثل ایدز و آرتریت نیز مهم است. زیرا ژن‌های شخص، استعداد ابتلا به این بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. علاوه براین، همهٔ اقسام بیماری‌ها منجر به تغییر در بیان ژن‌های سلول‌های مبتلا و نیز درون سیستم ایمنی بیمار می‌گردد. دانشمندان با استفاده از روش ریزآرایهٔ DNA و دیگر شیوه‌های مقایسهٔ بیان ژن در بافت‌های سالم و بیمار، همان‌طور که در شکل ۱-۲۰ دیده می‌شود، امیدوارند ژن‌های مختلفی که در بیماری‌هایی خاص فعال یا غیرفعال می‌شوند را پیدا کنند. این ژن‌ها و محصولات آنها اهداف بالقوه‌ای برای پیشگیری یا درمان به حساب می‌آیند.

تشخیص و درمان بیماری‌ها

با ظهور فن‌آوری DNA و به‌ویژه با بهره‌گیری از روش PCR و کاوشگرهای نوکلئیک اسیدی نشان‌دار برای جستجوی عوامل بیماری‌زای خاص، فصل جدیدی در تشخیص بیماری‌های عفونی گشوده شد. به‌طور مثال، به‌خاطر آنکه مادهٔ ژنتیکی ویروس HIV (RNA) شناخته شده است، روش RT-PCR می‌تواند برای تکثیر و ردیابی ژنوم ویروس در خون یا نمونه‌های بافتی به‌کار گرفته شود (شکل ۱۳-۲۰ را ببینید). RT-PCR اغلب بهترین روش برای شناسایی عوامل عفونی‌ای است که با روش‌های دیگر به‌سختی شناسایی می‌شوند.

اکنون دانشمندان علوم پزشکی می‌توانند صدها نارسایی ژنتیکی را با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای مربوط به ژن‌های این بیماری‌ها، تشخیص داده، سپس با توالی‌یابی محصول تکثیریافتهٔ ژن، جهش‌های عامل بیماری را جستجو کنند. در بین ژن‌های مربوط به بیماری‌های انسانی که تاکنون کلون شده‌اند، ژن‌های بیماری کم‌خونی داسی‌شکل، هموفیلی، سیستیک فایبروزیس، بیماری هانتینگتون و دیستروفی عضلانی دوشن قرار دارند. اغلب می‌توان افراد مبتلا به این بیماری‌ها را قبل از شروع علائم بیماری و یا حتی پیش از تولد، شناسایی نمود. PCR همچنین می‌تواند برای شناسایی حاملان بی‌علامت که دارای الل مغلوب خطرناک هستند، مورد استفاده قرار گیرد. PCR به ویژه برای این منظور، جایگزین روش لکه‌گذاری ساترن شده است.

همان‌طور که قبلاً آموختید، مطالعات ارتباطی در سطح ژنوم به‌دقت بر ارتباط نزدیک SNPها (چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی) با الل‌های عامل بیماری اشاره دارند. برای پی بردن به حضور SNPای که دلالت بر وجود الل ناهنجاری دارد؛ می‌توان افراد را مورد آزمایش قرار داد. وجود SNPهای خاص با افزایش خطر شرایطی مثل بیماری قلبی، بیماری آلزایمر و برخی از سرطان‌ها ارتباط دارد. شرکت‌هایی که آزمایش ژنتیکی فردی را برای عوامل خطری مثل اینها پیشنهاد می‌کنند، در حال جستجوی وجود SNPهای مرتبطی هستند که از قبل شناخته شده‌اند. این مسأله می‌تواند برای افراد در درک وضعیت سلامتی‌شان مفید باشد.

روش‌های توصیف شده در این فصل، پیشرفت روش‌های درمانی را نیز تسریع کرد. محققان، با تجزیه و تحلیل بیان بسیاری از ژن‌ها در بیماران مبتلا به سرطان پستان، یک مطالعه ارتباطی در سطح ژنوم برای شناسایی ۷۰ ژن که الگوی بیان‌شان قادر به عود سرطان بود را انجام دادند. با توجه به اینکه بیماران کم‌خطر به میزان ۹۶٪ شانس بقا در طول یک دوره ده ساله بدون هرگونه درمانی را دارا هستند، تجزیه و تحلیل‌های مربوط به بیان ژن به پزشکان و بیماران اجازهٔ دسترسی به اطلاعات با ارزشی به هنگام توجه به موارد درمانی را می‌دهد.

رؤیاهای بسیاری دربارهٔ آیندهٔ «پزشکی شخصی» وجود دارد که توسط آن نقشهٔ ژنتیکی سلامت هر شخص می‌تواند به آنها دربارهٔ بیماری یا شرایطی که آنها را به‌طور خاص در معرض خطر قرار می‌دهد، آگاهی دهد و به آنها در انتخاب روش درمانی کمک کند. اخیراً نقشهٔ ژنتیکی به مفهوم نشانگرهای ژنتیکی مثل SNPهاست اما، بالاخره می‌تواند به معنای توالی DNA کامل هر شخص باشد؛ هر چند توالی‌یابی ژنوم هنوز بسیار گران‌قیمت و پرهزینه است.

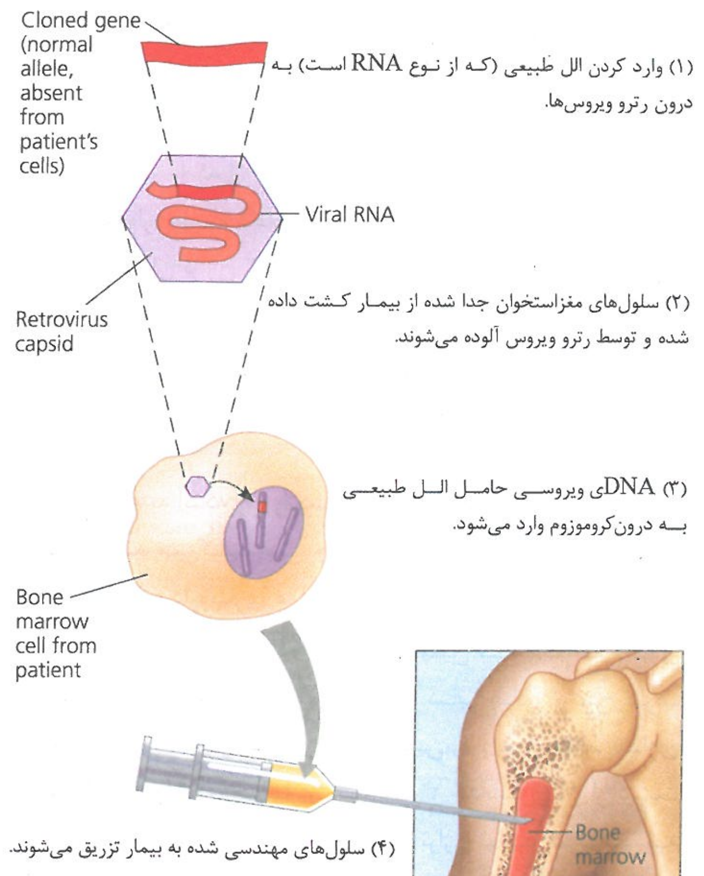
ژن‌درمانی[1] انسان

ژن‌درمانی یا تغییر ژن‌های فرد بیمار، پتانسیل زیادی را برای درمان نارسایی‌هایی که ناشی از یک ژن ناقص می‌باشد، به‌وجود آورده است. از نظر تئوری می‌توان الل طبیعی ژن را به درون سلول‌های بدنی[2] بافت مبتلا به نارسایی وارد ساخت.

برای آنکه ژن‌درمانی سلول‌های بدنی پایدار باشد، بایستی سلول‌های گیرندهٔ الل طبیعی قادر باشند در خلال زندگی بیمار تکثیر یابند. سلول‌های مغز استخوان دارای سلول‌های بنیادی هستند که قادرند به همهٔ انواع سلول‌های خونی و سیستم ایمنی تبدیل شوند، و نامزد اصلی در این انتخاب به شمار می‌آیند. **شکل ۲۳-۲۰** یک روش ممکن برای ژن‌درمانی فردی که سلول‌های مغز استخوانش به دلیل نقص در یک ژن منفرد، یک آنزیم حیاتی را تولید نمی‌کند، نمایش می‌دهد. در نوعی بیماریِ *نقص ایمنی مختلط شدید (SCID)*[3] که به‌خاطر چنین ایرادی ایجاد شده است، اگر درمان موفقیت‌آمیز باشد، سلول‌های مغز استخوان بیمار شروع به تولید پروتئین حیاتی نموده و فرد بهبود خواهد یافت.

روشی که در شکل ۲۳-۲۰ نشان داده شده، در کارآزمایی‌های بالینی ژن‌درمانی این بیماری مورد استفاده قرار گرفته است. در کارآزمایی که در سال ۲۰۰۰ در فرانسه آغاز گردید، ده کودک مبتلا به SCID با همین روش مورد درمان قرار گرفتند. ۹ بیمار بعد از ۲ سال، بهبودی قابل توجه و مشخصی را نشان دادند که این مورد اولین موفقیت قطعی ژن‌درمانی به حساب می‌آید. با این‌حال، سه تن از بیماران به لوکمی[4] (نوعی سرطان سلول‌های خون) مبتلا شدند و یکی از آنها فوت کرد. دو عامل می‌تواند دلیل ایجاد لوکمی باشد: الحاق وکتور رتروویروسی نزدیک ژنی که در تکثیر سلول‌های خونی

1- Gene therapy
2- Somatic cells
3- Sever combined immunodeficiency
4- Leukemia



◀ **شکل ۲۳-۲۰ ژن‌درمانی با استفاده از وکتور رتروویروسی.** *از رتروویروسی که بی‌خطر شده است، در این روش به‌عنوان وکتور استفاده می‌شود و از توانایی رتروویروس برای وارد ساختن نسخه DNAی حاصل از RNAی ژنومی خود، به درون کروموزوم میزبان بهره گرفته می‌شود (شکل ۸-۱۹ را ببینید). اگر ژن بیگانه‌ای که توسط وکتور رتروویروس حمل می‌شود بیان گردد، سلول و زاده‌های آن، از محصول ژن برخوردار شده و ممکن است بیمار بهبود یابد. سلول‌هایی که در طول حیات توانایی تکثیر دارند، مانند سلول‌های مغز استخوان، نامزدهای ایده‌آلی در ژن‌درمانی به‌حساب می‌آیند.*

نقش دارد و عملکرد ناشناختهٔ جابه‌جایی خود ژن. دو بیماری دیگر ژنتیکی اخیراً به‌وسیله روش ژن‌درمانی به‌طور تقریبی درمان شده‌اند: یکی عامل نابینایی پیش‌رونده (شکل ۲۱-۵۰ را ببینید) بود و دیگری که باعث انهدام و از بین رفتن دستگاه عصبی می‌شد. این‌گونه تلاش‌های موفقیت‌آمیز فقط در مورد تعداد کمی از بیماران اتفاق افتاده است اما هنوز هم دلیلی برای خوش‌بینی‌های محتاطانه هستند.

چندین پرسش تکنیکی دیگر نیز در مقابل ژن‌درمانی وجود دارد. به‌طور مثال چگونه می‌توان فعالیت ژن انتقالی را به گونه‌ای تنظیم نمود که سلول‌ها را مجبور کند مقادیر مناسبی از محصول ژن را در زمان و مکان مناسب تولید نمایند؟ چگونه می‌توانیم مطمئن شویم که ورود ژن درمانگر، اثر بدی برروی دیگر فعالیت‌های ضروری سلول ندارند؟ همزمان با افزایش آموخته‌های دانشمندان در مورد عناصر تنظیمی DNA و برهمکنش ژن‌ها، آنها می‌توانند به چنین سؤالاتی پاسخ مناسبی دهند.

علاوه بر چالش‌های تکنیکی، ژن‌درمانی مسائل اخلاقی مهمی را هم برانگیخته است. بعضی از منتقدان معتقدند تغییر ژن‌های انسان به هر نحوی، غیراخلاقی است. با این‌حال ناظران دیگر، تفاوت مهمی بین پیوند ژن به درون سلول‌های بدنی و پیوند اعضا قائل نمی‌شوند و هر دو را سودمند می‌پندارند. درمان سلول‌های زایندهٔ انسانی به امید اصلاح یک نارسایی در نسل‌های بعدی بشر، بحث‌های اخلاقی بیشتری را برانگیخته است. این نوع مهندسی ژنتیک به‌طور متداول در موش آزمایشگاهی انجام پذیرفته و در نهایت مشکلات تکنیکی مربوط به مهندسی ژنتیک مشابه آن در انسان هم حل خواهد شد. در هر صورت، تحت چه شرایطی بایستی ژنوم سلول‌های زاینده را تغییر دهیم؟ آیا این موضوع ناچاراً به تکرار یوژنیک، یعنی تلاشی عمدی برای کنترل آرایش ژنتیکی جمعیت‌های انسانی، منجر خواهد شد؟ از آنجایی‌که همین الان نمی‌توانیم این سؤالات را پاسخ دهیم، توجه به آنها بسیار با ارزش است زیرا شاید در آینده، در موارد خاصی، دوباره سربرآورند.

محصولات دارویی

صنایع دارویی منافع زیادی از پیشرفت در فن‌آوری DNA و تحقیقات ژنتیکی می‌برد و از آنها برای ساخت داروهای مفید برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کند. محصولات دارویی، بسته به طبیعت‌شان، با استفاده از روش‌های شیمی آلی یا فن‌آوری زیستی ساخته می‌شوند.

ساخت مولکول‌های کوچک برای استفاده به‌عنوان دارو

یک پیشرفت جالب‌توجه جدید، ساخت مولکول‌های کوچکی است که برای درمان سرطان‌های خاص به‌کار می‌روند. این مولکول‌ها از طریق مهار فعالیت پروتئین‌هایی که برای زنده ماندن سلول‌های توموری حیاتی هستند، عمل می‌کنند. یک دارو به‌نام ایماتینیب[1] (با نام تجاری گلیوک[2])، یک مولکول کوچک است که یک گیرندهٔ تیروزین کینازی خاص را مهار می‌کند (شکل ۷-۱۱ را ببینید). افزایش بیان این گیرنده که از یک جابه‌جایی کروموزومی ناشی می‌شود منجر به ایجاد لوکمی میلوژن مزمن[3] (CML؛

1- Imatinib
2- Gleevec
3- Chronic myelogenous leukemia

شکل ۱۶-۱۵ را ببینید) می‌شود. بیمارانی که در مراحل اولیهٔ CML با ایماتینیب درمان شده‌اند، فروکش کامل و پایدار سرطان را نشان داده‌اند. داروهایی که اینگونه عمل می‌کنند همچنین با موفقیت برای درمان تعداد کمی از سرطان‌های ریه و پستان به‌کار رفته‌اند. این راهکار فقط برای سرطان‌هایی قابل انجام است که اساس مولکولی آنها به‌خوبی شناخته شده باشد.

محصولات دارویی که پروتئینی هستند می‌توانند در مقادیر زیاد به‌وسیلهٔ سلول‌ها یا جاندار کامل تولید شوند. درحال حاضر از کشت سلولی به‌طور گسترده‌تری استفاده می‌شود.

تولید پروتئین در کشت‌های سلولی

پیش از این، در این فصل مطالبی را دربارهٔ کلون کردن DNA و سیستم‌های بیانی برای تولید مقادیر زیاد از پروتئین‌هایی که در حالت طبیعی به مقدار ناچیزی وجود دارند، آموختید. حتی می‌توان سلول‌های میزبان مورد استفاده در چنین سیستم‌های بیانی را به گونه‌ای طراحی کرد که بتواند پروتئین حاصله را ترشح نموده و بنابراین مسألهٔ خالص‌سازی آن با روش‌های مرسوم بیوشیمی را آسان ساخت.

در بین نخستین محصولات دارویی که با این روش ساخته شده‌اند، انسولین انسانی و هورمون رشد (HGH) قرار دارد. نزدیک به دو میلیون نفر از مردم آمریکا که به دیابت مبتلا هستند، برای کنترل بیماری خود به درمان با انسولین وابسته هستند. هورمون رشد انسانی نیز یک درمان نسبی برای کودکانی که با نوعی کوتاه‌قدی ناشی از نبود مقدار کافی هورمون رشد متولد شده‌اند، به‌شمار می‌رود. محصول مهم دارویی دیگری که به‌وسیلهٔ مهندسی ژنتیک ساخته شده است، فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی(TPA)[1] است. اگر این پروتئین در زمان کوتاهی بعد از حملهٔ قلبی به بیمار تجویز شود به حل شدن لخته‌های خون کمک کرده و خطر حملات قلبی بعدی را کاهش می‌دهد.

تولید پروتئین به‌وسیلهٔ جانوران دارویی[2]

در بعضی موارد، دانشمندان داروشناس به‌جای استفاده از سیستم‌های موجود در محیط آزمایشگاه برای تولید مقادیر بالای محصولات پروتئینی، از جانوران استفاده می‌کنند. دانشمندان می‌توانند یک ژن را از جانورانی با ژنوتیپ خاص، به حیوانی دیگر و اغلب از یک گونهٔ متفاوت، وارد کنند. این جانور یک جانور **تراژن**[3] نامیده می‌شود. برای این‌کار، آنها ابتدا تخمک‌ها را از گونهٔ گیرنده جدا می‌کنند و آنها را در محیط آزمایشگاه بارور می‌سازند. سپس ژن مورد نظر را که از جاندار دهنده جدا شده و کلون گردیده است مستقیماً وارد هستهٔ تخم بارور می‌نمایند. بعضی از سلول‌ها، DNA بیگانه یا همان تراژن را در ژنوم خود ادغام می‌کنند و قادرند تا آن را بیان کنند. جنین‌های مهندسی‌شده سپس با روش‌های جراحی وارد بدن مادر جانشینی می‌شوند. اگر جنین با موفقیت تکوین پیدا کند، نتیجه یک جانور تراژن خواهد بود که ژن بیگانهٔ جدیدش را بیان می‌کند.

با توجه به اینکه ژن واردشده پروتئین مورد نظر را در مقادیر زیاد تولید می‌کند، این جانوران تراژن می‌توانند به‌عنوان «کارخانه‌های» داروسازی عمل کنند. برای مثال، یک تراژن مربوط به یک پروتئین خونی انسان، مانند آنتی‌ترومبین می‌تواند به نحوی وارد ژنوم یک بز شود که محصول آن در شیر جانور ترشح گردد (**شکل ۲۴-۲۰**). سپس می‌توان این پروتئین را از شیر خالص‌سازی نمود که معمولاً این جداسازی آسان‌تر از جداسازی آن از کشت سلولی است. محققان همچنین مرغ‌های تراژن تولید کرده‌اند که مقادیر زیادی از محصول تراژن را در تخم‌هایشان بیان می‌کنند. شرکت‌های فن‌آوری زیستی، ویژگی‌های مختلف جانوران انتخاب شده را در نظر می‌گیرند تا بتوانند جانور مناسب برای مهندسی ژنتیک را انتخاب کنند. برای مثال بزها، سریع‌تر از گاوها تولیدمثل می‌کنند و می‌توان پروتئین بیشتری را از شیر بزها نسبت به سایر پستانداران، مانند خرگوش‌ها، جداسازی نمود.



◀ **شکل ۲۴- ۲۰ بزها به‌عنوان جانوران داروساز.** *این بز تراژن حامل یک ژن برای یک پروتئین خونی انسان به نام آنتی‌ترومبین است که آن را در شیرش ترشح می‌کند. بیمارانی که به علت یک بیماری ارثی نادر فاقد این پروتئین هستند، از تشکیل لخته‌های خونی در عروق خونی‌شان رنج می‌برند. این پروتئین که به آسانی از شیر بز جدا می‌شود در ایالات متحده و اروپا برای درمان این بیماران به‌کار می‌رود.*

1- Tissue plasminogen activator

2- Pharm animals:

مترجم: یک اصطلاح که در آن از شباهت کلمهٔ pharm به معنی دارو و farm به معنی اهلی استفاده شده است.

3- Transgenic

پروتئین‌های انسانی که در جانوران تراژن تولید شده‌اند ممکن است از بعضی جهات با پروتئین انسانی که به‌طور طبیعی تولید می‌شود، تفاوت داشته باشند و این به‌علت تغییرات جزئی در پروتئین است. بنابراین چنین پروتئین‌هایی باید به‌دقت مورد آزمایش قرار گیرند تا اطمینان حاصل شود در بیمارانی که آنها را دریافت می‌کنند، واکنش‌های آلرژیک یا سایر عوارض جانبی را ایجاد نمی‌کنند.

شواهد جنایی و پروفایل ژنتیکی

در جرائم خشونت‌آمیز امکان دارد خون یا قطعات کوچکی از بافت در صحنهٔ جنایت یا برروی لباس‌ها و دیگر وسائل قربانی یا ضارب باقی مانده باشد. اگر مقادیر کافی از خون، منی و یا بافت وجود داشته باشد، کارکنان آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی می‌توانند با استفاده از آنتی‌بادی‌هایی که پروتئین‌های خاص سطح سلول را شناسایی می‌کنند، گروه خون یا گروه بافت را تعیین کنند. با این‌حال چنین آزمایش‌هایی به مقادیر نسبتاً زیادی از نمونه‌های کاملاً تازه نیاز دارد. همچنین به‌خاطر آنکه بسیاری از مردم گروه خونی یا بافتی مشابه دارند این راهکار تنها قادر است بی‌گناهی یک مظنون را ثابت نماید اما نمی‌تواند مدارک قوی برای گناهکار بودن فردی ارائه دهد.

از سویی دیگر، آزمایش DNA می‌تواند با اطمینان زیاد فرد مجرم را شناسایی کند زیرا توالی‌های DNA هر شخص منحصربه فرد می‌باشد (به‌جز دوقلوهای یکسان). نشانگرهای ژنتیکی که درون جمعیت متفاوتند را می‌توان در یک فرد مورد ارزیابی قرار داد تا مجموعهٔ منحصربه‌فرد این نشانگرهای ژنتیکی یا همان **پروفایل ژنتیکی**[1] وی را شناخت. (این اصطلاح یعنی پروفایل ژنتیکی توسط دانشمندان علوم جنایی، به اصطلاح «اثر انگشت DNA[2]» ترجیح داده می‌شود. زیرا به این وسیله آنها روی ویژگی قابل وراثت این نشانگرها تأکید بیشتری می‌کنند تا اینکه فقط به این واقعیت ساده که آنها روی ژل، الگویی شبیه به اثر انگشت ایجاد می‌کنند، توجه کرده باشند.) FBI در سال ۱۹۸۸ با استفاده از آنالیز RFLP توسط لکه‌گذاری ساترن، برای شناسایی تشابهات و تفاوت‌ها در نمونه‌های DNA، شروع به استفاده از فن‌آوری DNA نمود. این روش نمونهٔ بسیار کوچک‌تری از خون یا بافت نسبت به روش‌های قدیمی‌تر نیاز داشت یعنی حدود ۱۰۰۰ سلول.

امروزه دانشمندان علوم جنایی از یک روش حساس‌تر استفاده می‌کنند که براساس تنوع در طول نشانگرهای ژنتیکی استوار است و **تکرارهای متوالی کوتاه (STRs)**[3] نامیده می‌شود. این‌ها واحدهای تکرارشونده‌ای از ۲ تا ۵ باز در مناطق خاصی از ژنوم هستند. تعداد تکرارهایی که در این مناطق وجود دارند از فردی به فرد دیگر بسیار متفاوتند (پلی‌مورفیک). برای مثال، یک نفر ممکن است دارای توالی ACAT باشد که ۳۰ بار در یک جایگاه ژنوم تکرار شده باشد درحالی‌که فرد دیگری ۱۸ تکرار در این جایگاه داشته باشد. PCR با استفاده از پرایمرهایی که با رنگ‌های فلوئورسنت مختلف نشانه‌گذاری شده‌اند برای تکثیر STRهای خاص مورد استفاده قرار می‌گیرد. طول این مناطق و بنابراین تعداد تکرارها را می‌توان با الکتروفورز تعیین کرد. این روش سریع‌تر از آنالیز RFLP انجام می‌شود زیرا در آن نیازی به استفاده از لکه‌گذاری ساترن نیست. PCR اجازه می‌دهد تا بتوان از این روش حتی درصورتی‌که DNA در شرایط بدی باشد یا در مقادیر بسیار کم وجود داشته باشد استفاده کرد. یک نمونهٔ بافتی که حتی ۲۰ سلول داشته باشد، می‌تواند برای تکثیر PCR کافی باشد.

برای مثال، در یک پروندهٔ قتل از این روش می‌توان برای مقایسهٔ نمونه‌های DNA به‌دست آمده از مظنون، مقتول و مقدار کمی خون که در صحنهٔ جرم پیدا شده است، استفاده کرد. دانشمند علوم جنایی فقط قطعهٔ انتخاب‌شدهٔ کوچکی از DNA که معمولاً ۱۳ نشانگر STR است را آزمایش می‌کند. حتی این مجموعهٔ کوچک از STRها می‌توانند پروفایل ژنتیکی سودمندی به‌دست دهند، زیرا احتمال اینکه دو فرد (که دوقلوهای یکسان نباشند) دقیقاً مجموعهٔ یکسانی از نشانگرهای STR را داشته باشند بسیار کم است. یک سازمان غیر انتفاعی در اقدامی تحت عنوان «پروژهٔ بی‌گناهی»، از آنالیز STR نمونه‌های بایگانی‌شده به‌دست آمده از صحنهٔ جرم برای بازنگری پرونده‌های قدیمی استفاده می‌کند. تا سال ۲۰۱۰، ۲۵۰ فرد بی‌گناه در نتیجهٔ فعالیت‌های قانونی و جنایی این تشکیلات از زندان آزاد شده‌اند (**شکل ۲۵-۲۰**).

پروفایل‌های ژنتیکی همچنین می‌توانند برای اهداف دیگری سودمند باشند. مقایسهٔ DNA مادر، فرزند و پدر ادعاشده، به‌طور قطع منجر به اثبات مسألهٔ شناخت پدر خواهد شد. گاهی مسألهٔ شناخت پدر از نکات جالب تاریخی به حساب می‌آید: پروفایل ژنتیکی دلایل محکمی ارائه نموده است که ثابت می‌کند توماس جفرسون[4] یا یکی از بستگان مذکر نزدیک وی، پدر حداقل یکی از

1- Genetic profile
2- DNA fingerprint
3- Short tandem repeats (STRs)
4- Thomas Jefferson



(a) در سال ۱۹۸۴، ارل واشینگتون به جرم ۱۹۸۲ مورد تجاوز و قتل ربکا ویلیامز دستگیر و محکوم به مرگ شد. حکم او، به دلیل تردیدی که در مورد شواهد وجود داشت، به زندگی در زندان تا سال ۱۹۹۳ تغییر کرد. در سال ۲۰۰۰، تجزیه و تحلیل STR توسط دانشمندان پزشکی قانونی مرتبط با برنامهٔ بی‌گناهی نهایتاً نشان داد که او بی‌گناه است. این تصویر واشینگتون را پس از سپری کردن ۱۷ سال در زندان، کمی قبل از آزادیش در سال ۲۰۰۱ نشان می‌دهد.

Source of sample	STR marker 1	STR marker 2	STR marker 3
Semen on victim	17,19	13,16	12,12
Earl Washington	16,18	14,15	11,12
Kenneth Tinsley	17,19	13,16	12,12

(b) در آنالیز STR، نشانگرهای STR انتخاب شده در نمونهٔ DNA به‌وسیله PCR تکثیر می‌شوند و محصولات PCR توسط الکتروفورز از یکدیگر جدا می‌شوند. روش کار معلوم می‌کند که هر لوکوس STR نمونه، چند تکرار دارد. هر شخص دارای دو الل برای هر لوکوس STR است که هر کدام تعداد تکرارهای کاملاً مشخصی دارند. این جدول تعداد تکرارهای سه نشانگر STR را در سه نمونه DNA نشان می‌دهد: مایع منی یافت شده در قربانی، از واشینگتون و از مردی دیگر به نام کنث تینسلی که او نیز به دلیل یک جرم غیر مرتبط در زندان به‌سر می‌برد. این اطلاعات و داده‌های دیگر STR (که نشان داده نشده) واشینگتون را تبرئه و تینسلی را به اعتراف به جرمش مجبور کرد.

◀ شکل ۲۵- ۲۰ آنالیز STR که برای آزادی یک مرد بی‌گناه از زندان استفاده شد.

فرزندان خدمتکارش سالی همینگ[1] بوده است. پروفایل‌های ژنتیکی همچنین می‌توانند قربانی‌های حوادث بزرگ را شناسایی کنند. بزرگ‌ترین تلاشی که در این زمینه صورت گرفته است مربوط به حمله به مرکز تجارت جهانی در سال ۲۰۰۱ می‌باشد که در آن ۱۰۰۰۰ نمونهٔ به‌دست آمده از قربانیان با نمونه‌های DNA حاصل از وسائل شخصی، مانند مسواک که توسط خانواده‌هایشان ارائه شده بود، مقایسه شدند. سرانجام دانشمندان جنایی موفق شدند ۳۰۰۰ قربانی را با این روش‌ها شناسایی کنند.

با وجود تمام مطالب یاد شده، پروفایل ژنتیکی تا چه حد قابل اعتماد است؟ هر چه تعداد نشانگرهایی که در یک نمونهٔ DNA آزمایش می‌شوند بیشتر باشند، احتمال اینکه آن پروفایل برای یک فرد اختصاصی باشد، بیشتر خواهد بود. در پرونده‌های جنایی که در آنها از آنالیز STR با ۱۳ نشانگر ژنتیکی استفاده می‌شود، احتمال اینکه دو نفر پروفایل DNA یکسان داشته باشند چیزی بین یک در ۱۰ میلیارد و یک در چندین تریلیون است. (برای مقایسه، جمعیت جهان در سال ۲۰۰۹ حدود ۶/۸ میلیارد بود.) احتمال دقیق بستگی به فراوانی آن نشانگرها در جمعیت عمومی دارد. اطلاعات در مورد اینکه نشانگرهای مختلف چقدر در گروه‌های نژادی مختلف شایعند بسیار اهمیت دارد زیرا فراوانی این نشانگرها ممکن است به‌طور قابل توجهی بین گروه‌های نژادی و بین یک گروه نژادی خاص و کل جمعیت متفاوت باشد. با افزایش قابلیت به‌دست آوردن اطلاعات مربوط به این تکرارها، دانشمندان علوم جنایی می‌توانند محاسبات آماری بسیار دقیقی انجام دهند. بنابراین با وجود مشکلاتی که می‌توانند از اطلاعات ناکافی، خطاهای انسانی یا مدارک ناقص ناشی شوند، پروفایل‌های ژنتیکی امروزه مدرکی جالب توجه برای متخصصان قانونی و دانشمندان به‌شمار می‌آیند.

پاکسازی محیطی

امروزه از توانایی قابل توجه جانداران خاصی در تغییر مواد شیمیایی برای پاکسازی محیط استفاده می‌شود. اگر نیازهای رشدی چنین میکروب‌هایی، آنها را برای استفادهٔ مستقیم غیرمناسب سازد، دانشمندان می‌توانند ژن‌های مربوط به قابلیت‌های متابولیک باارزش آنها را وارد میکروب‌های دیگر کنند و از آنها برای بهبود مشکلات محیطی استفاده نمایند. به‌طور نمونه، بسیاری از باکتری‌ها می‌توانند فلزات سنگین مانند سرب، نیکل و مس را از محیط اطراف خود برداشته و در ترکیباتی مانند سولفات مس یا سولفات سرب که به آسانی قابل بازیافت می‌باشد، وارد کنند. میکروب‌های مهندسی‌شده ممکن است در استخراج مواد معدنی (خصوصاً هنگامی‌که معادن کانسنگ به اتمام رسد) و تصفیهٔ پس‌ماندهای بسیار سمی اهمیت پیدا کنند. محققان فن‌آوری زیستی در تلاش هستند تا میکروب‌هایی را طراحی کنند که بتوانند هیدروکربن‌های کلردار و دیگر ترکیبات مضر را تجزیه نمایند. از این میکروب‌ها می‌توان در گیاهانی که با فاضلاب آبیاری می‌شوند یا در کارخانه، قبل از آنکه ترکیبات سمی را در محیط رها کنند، استفاده کرد.

1- Sally Hemings

کاربردهای کشاورزی

دانشمندان درحال مطالعهٔ بیشتر روی ژنوم گیاهان و جانورانی هستند که از نظر کشاورزی با اهمیت‌اند. برای چندین سال، آنها از فن‌آوری DNA برای ارتقای تولیدات کشاورزی استفاده کرده‌اند. تولیدمثل انتخابی احشام (دامپروری) و غلات هر دو به صورت طبیعی توسط رخداد جهش‌ها و نوترکیبی‌های ژنتیکی طی هزاران سال اتفاق افتاده است.

همان‌طوری که قبلاً تشریح کردیم، فن‌آوری DNA دانشمندان را قادر به تولید جانوران تراریختی می‌کند که فرایند تولیدمثل انتخابی را تسریع می‌کنند. اهداف تولید جانوران تراریخت اغلب مشابه با اهداف تولیدمثل سنتی هستند؛ به‌طور مثال می‌توان به اهدافی مانند ساخت یک گوسفند با پشم مرغوب‌تر، خوکی با چربی کمتر و گاوی که در زمان کم‌تری بالغ می‌شود، اشاره کرد. به‌عنوان نمونه، دانشمندان ممکن است ژن عامل تمایز عضلات بزرگ‌تر (عضلات بخش زیادی از گوشتی که ما می‌خوریم را تشکیل می‌دهد) را از گونه‌ای گاو شناسایی و کلون نموده و آن را به گونه‌های دیگر گاو و حتی گوسفندان انتقال دهند. در هر صورت، مشکلاتی مانند کاهش باروری و افزایش حساسیت به بیماری‌ها در جانوران اهلی که حامل ژن‌های انسانی یا سایر گونه‌ها هستند، شایع است. همچنین سلامت و رفاه جانور مسائل مهمی هستند که هنگام تولید جانوران تراژن باید به آنها توجه کرد.

دانشمندان علم کشاورزی تاکنون تعدادی از گیاهان زراعی با ویژگی‌های مطلوب مثل دیررس بودن و مقاومت در برابر بیماری‌ها و فساد را به‌وجود آورده‌اند. از دیدگاهی خاص معمولاً گیاهان آسان‌تر از جانوران مهندسی می‌شوند. در مورد بسیاری از گونه‌های گیاهی، یک سلول منفرد از بافت گیاه که در محیط کشت رشد یافته، قادر است به یک گیاه بالغ تبدیل شود (شکل ۱۷-۲۰ را ببینید). بنابراین می‌توان دستکاری‌های ژنتیکی را برروی این سلول منفرد انجام داد و سپس از این سلول برای ایجاد یک جاندار با صفات جدید سود برد.

شایع‌ترین وکتوری که برای عرضهٔ ژن‌های جدید به سلول‌های گیاهی استفاده می‌شود پلازمیدی به‌نام **پلازمید Ti** است که از باکتری خاک‌زی اگروباکتریوم تومه‌فاسینس[1] به‌دست آمده است. این پلازمید قسمتی از خود با نام T DNA را به درون کروموزوم گیاه میزبان، وارد می‌سازد. محققان به‌منظور انتقال ژن، از نمونه‌ای از پلازمید که برخلاف نوع اصلی آن نمی‌تواند بیماری ایجاد کند، استفاده می‌کنند. این پلازمید طوری مهندسی شده است که ژن‌های مورد نظر را در درون T DNA حمل می‌کند. **شکل ۲۶-۲۰** یک شیوهٔ استفاده از پلازمید Ti برای تولید گیاهان تراژن را نشان می‌دهد.

1- *Agrobacterium tumefaciens*

مهندسی ژنتیک به‌سرعت جایگزین روش‌های سنتی اصلاح گیاهان به‌خصوص برای صفات مطلوبی مانند مقاومت در برابر علف‌کش‌ها یا آفات که به‌وسیلهٔ یک یا چند ژن محدود صورت می‌پذیرد، خواهد شد. به‌عنوان مثال، امروزه گیاهان با ژن‌های باکتریایی مهندسی شده‌اند که در برابر علف‌کش‌ها مقاوم بوده و رشد می‌کنند، درحالی‌که علف‌ها از بین خواهند رفت. مشابه آن، گیاهان زراعی طوری مهندسی ژنتیک شده‌اند که در برابر میکروب‌های مخرب و حشرات، مقاوم شده و لذا نیاز به حشره‌کش‌های شیمیایی را کاهش داده‌اند. در هندوستان، ورود ژن مقاومت به نمک که از گیاه مانگروی ساحلی به‌دست آمده بود، به درون ژنوم چندین نوع برنج، منجر به ایجاد گیاهان برنجی شد که می‌توانند در آبی با شوری ۳ برابر بیشتر نسبت به آب دریا رشد کنند. سازمان تحقیقاتی که این مهندسی ژنتیک را انجام داد تخمین می‌زند که $\frac{۱}{۳}$ تمام زمین‌های آبیاری‌شده، شوری بالایی دارند و این به‌علت آبیاری بیش از حد و استفادهٔ شدید از کودهای شیمیایی است که یک تهدید جدی در مقولهٔ تأمین غذا است. بنابراین تولید گیاهان زراعی مقاوم به شوری در تمام جهان بسیار با ارزش خواهد بود.

مسائل اخلاقی و ایمنی که با استفاده از فن‌آوری DNA بروز می‌یابند

نگرانی‌های آغازینی که دربارهٔ خطرات بالقوه همراه با ظهور فن‌آوری DNA نوترکیب به‌وجود آمد، برروی احتمال خلق عوامل بیماری‌زای جدید و خطرناک متمرکز می‌شد. به‌عنوان مثال اگر ژن‌های سلول سرطانی به ویروس‌ها یا باکتری‌ها منتقل شود چه اتفاقی می‌افتد؟ دانشمندان برای حفاظت از ظهور چنین میکروب‌های خطرناکی، مجموعه دستورالعمل‌هایی را تدوین نموده‌اند که در ایالات متحدهٔ امریکا و بعضی کشورهای دیگر جزء مقررات رسمی پذیرفته شده است. یک نمونه از این تدابیر امنیتی، مواردی از دستورالعمل‌های صریح و قاطع آزمایشگاهی است که برای محافظت محققین از آلوده شدن به میکروب‌های مهندسی شده و جلوگیری از خروج تصادفی آنها از آزمایشگاه تدوین شده است. در ضمن، سویه‌های میکروبی کوچکی که قرار است در آزمایشگاه‌های DNA نوترکیب استفاده شوند به‌صورت ژنتیکی ناتوان شده‌اند تا اطمینان حاصل شود که در بیرون آزمایشگاه قادر به حیات نیستند. در نهایت، روش‌های آزمایشگاهی که خطر قطعی به همراه دارند، منسوخ گردیده است.

شکل ۲۶-۲۰ پژوهش تحقیق

تولید گیاهان تراژن با استفاده از پلازمید Ti

کاربرد: با استفاده از پلازمید Ti به‌عنوان یک وکتور می‌توان ژن‌های صفات مفید مانند مقاومت به آفات، دیررس کردن محصولات، مقاومت به علف‌کش و افزایش ارزش غذایی را از یک واریته یا گونهٔ گیاهی به گونهٔ دیگر انتقال داد.

روش:

(۱) پلازمید Ti از باکتری اگروباکتریوم تومه‌فاسینس استخراج می‌شود. قطعه‌ای از پلازمید که به درون ژنوم میزبان درج می‌شود را T DNA می‌نامند.

Agrobacterium tumefaciens



Ti plasmid

(۲) ژن خارجی مورد نظر، با استفاده از روش‌هایی که در شکل ۴-۲۰ نشان داده شده‌اند، به وسط T DNA وارد و الحاق می‌شود.

Site where restriction enzyme cuts

T DNA

DNA with the gene of interest

Recombinant Ti plasmid

(۳) پلازمیدهای نوترکیب به‌وسیله الکتروپوریشن (منفذدار شدن الکتریکی) به درون سلول‌های گیاه کشت شده فرستاده می‌شود، یا اینکه ابتدا به باکتری اگروباکتریوم وارد شده و سپس به‌صورت یک سوسپانسیون مایع برروی گیاهان حساس به باکتری پاشیده شده و آنها را آلوده می‌کند. هنگامی‌که پلازمید به‌وسیله سلول گیاه برداشته می‌شود، T DNA به درون کروموزوم سلول درج می‌شود.





نتایج: سلول‌های تغییر یافته که ژن مورد نظر را حمل می‌کنند می‌توانند گیاه جدیدی تولید کنند که بوسیله ژن انتقالی می‌تواند ویژگی جدیدی را به نمایش بگذارد.



امروزه اغلب نگرانی‌های عمومی دربارهٔ خطرات احتمالی این فن‌آوری، برروی جانداران تغییریافتهٔ ژنتیکی (GM)[1] که به‌عنوان غذا استفاده می‌شوند و نه حول محور میکروب‌های نوترکیب، متمرکز شده است. به بیان ساده‌تر، جاندار تغییر ژنتیکی‌یافته جانداری است که یک یا چندین ژن از گونهٔ خود یا گونه‌های دیگر را با روش‌های مصنوعی کسب کرده است. به‌طور مثال می‌توان به ماهی آزادی اشاره کرد که با وارد ساختن یک ژن هورمون رشد بسیار فعال، به‌طور ژنتیکی تغییر یافته است. به هر جهت، بیشتر جانداران تغییر ژنتیکی یافته که در تهیهٔ منابع غذایی ما سهیم هستند، جانوران نمی‌باشند بلکه از گیاهان زراعی هستند.

گیاهان زراعی تغییر ژنتیکی یافته به‌طور گسترده‌ای در ایالات متحده، آرژانتین و برزیل وجود دارند به‌طوری که این سه کشور باهم ۸۰٪ زمین‌های زراعی اختصاص داده شده به این محصولات را دارا هستند. در ایالات متحده بیشتر ذرت، سویا و کانولا به‌صورت ژنتیکی تغییر یافته‌اند و احتیاجی نیست که این محصولات را به شکل ویژه نشانه‌گذاری کنند. با این‌حال این محصولات غذایی در اروپا مورد اختلاف نظر هستند به‌طوری که انقلاب محصولات تغییر ژنتیکی یافته با مخالفت زیادی روبه‌رو شده است. بسیاری از اروپاییان نگران سلامت غذاهای تغییر یافتهٔ ژنتیکی و عواقب احتمالی رشد این گیاهان روی محیط زیست هستند. در اوایل سال ۲۰۰۰، مذاکره‌کنندگان ۱۳۰ کشور مختلف از جمله ایالات متحده بر یک دستورالعمل ایمنی زیستی توافق کردند که طی آن صادرکنندگان ملزم می‌شوند وجود جانداران تغییر یافتهٔ ژنتیکی در محمولهٔ غذایی را ذکر کرده و به کشورهای واردکننده این اجازه را می‌دهد تا در مورد وجود خطرات محیطی و سلامت افراد تصمیم بگیرند. از آن پس، کشورهای اروپایی گاهاً محصولات زراعی ایالات متحده و سایر کشورها را رد کرده‌اند که به نوعی نزاع اقتصادی منجر شده است. با وجود اینکه تعداد کمی از محصولات زراعی تغییر ژنتیکی یافته روی خاک اروپا رشد کرده‌اند، این محصولات بازار خوبی در اروپا کسب نکرده‌اند و آیندهٔ این محصولات در اروپا مشخص نیست.

حامیان راهکارهای مراقبتی در مقابل محصولات تغییر ژنتیکی یافته، بیم آن را دارند که شاید گیاهان تراژن ژن‌های جدید خود را به خویشاوندان نزدیک در محیط طبیعی اطراف منتقل کنند. به‌عنوان مثال می‌دانیم که چمن و گیاهان زراعی به‌طور معمول از طریق انتقال دانهٔ گرده با خویشاوندان طبیعی خود تبادل ژنتیکی دارند. اگر گیاهان زراعی حامل ژن‌های مقاومت به علف‌کش،

1- Genetically modified organisms

بیماری‌ها و آفات، انواع طبیعی را از طریق گرده بارور کنند، نتیجهٔ آن ظهور علف‌های آبَرهرز[1] شده که کنترل آنها بسیار مشکل است. خطر احتمالی دیگر که در مطالعات آزمایشگاهی به آن اشاره شد، این است که یک تراژن که رمزکنندهٔ پروتئین آفت‌کش در گیاه است ممکن است سبب تولید گردهٔ سمی برای پروانه‌ها شود. با این‌حال دانشمندان مشغول در خدمات تحقیقات کشاورزی، از یک مطالعهٔ دوساله چنین نتیجه‌گیری کرده‌اند که غیرممکن است پروانه‌ها با مقادیر سمی از گرده مواجه شوند.

همانند خطراتی که از محصولات غذایی تغییر ژنتیکی یافته برای سلامت انسان در نظر گرفته می‌شود، بعضی از مردم از این موضوع که مصرف محصولات پروتئینی تراژن نیز ممکن است به واکنش‌های حساسیتی منجر شود، هراس دارند. اگرچه شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد این موضوع قابل وقوع است، هواداران این محصولات اظهار می‌دارند که می‌توان توانایی این پروتئین‌ها در ایجاد واکنش‌های حساسیتی را ارزیابی کرد و تولید آنهایی که واکنش‌های آلرژیک ایجاد می‌کنند را متوقف نمود.

امروزه دولت‌ها و سازمان‌های نظارتی با مسألهٔ بهبود بهره‌وری از فن‌آوری زیستی در کشاورزی، صنعت و پزشکی به گونه‌ای که سلامت روش‌ها و محصولات جدید نیز تضمین شده باشد، دست به گریبان هستند. در ایالات متحدهٔ آمریکا یافتن خطرات بالقوهٔ فن‌آوری زیستی توسط ارگان‌های نظارتی شامل سازمان جهانی دارو و غذا، سازمان حفاظت محیط زیست، مؤسسه جهانی سلامت و بخش کشاورزی ارزیابی می‌شود. این سازمان‌ها تحت فشارهای زیادی از جانب گروه‌های مصرف‌کننده قرار دارند. از سویی دیگر، سازمان‌های یاد شده و جامعهٔ عمومی باید موارد اخلاقی فن‌آوری زیستی را مورد توجه قرار دهند.

پیشرفت‌های فن‌آوری زیستی به ما امکان داده است تا توالی ژنومی کامل انسان‌ها و بسیاری گونه‌های دیگر را بیابیم و بنابراین یک گنجینهٔ اطلاعاتی بزرگ دربارهٔ ژن‌ها داشته باشیم. اکنون ما می‌توانیم بپرسیم چگونه ژن‌های خاص از یک گونه به گونهٔ دیگر تغییر می‌کنند و اینکه ژن‌ها و کل ژنوم چگونه تکامل پیدا کرده است. (این‌ها موضوعات فصل ۲۱ هستند.) همزمان افزایش سرعت و کاهش هزینهٔ تعیین توالی ژنوم افراد، سؤالات اخلاقی مهمی را برانگیخته است. چه کسی حق آزمایش ژن‌های دیگران را دارد؟ چگونه باید از این اطلاعات استفاده شود؟ آیا ژنوم شخص بایستی به‌عنوان یک فاکتور در تأیید صلاحیت او برای شغل یا امکان بیمهٔ او در نظر گرفته شود؟ نکات اخلاقی موجود به همراه نگرانی‌هایی در مورد خطرات بالقوهٔ محیطی و انسانی، به احتمال زیاد بعضی از کاربردهای فن‌آوری زیستی را کُند خواهد ساخت. اغلب در این موارد چنین نظارتی خطر سرکوب تحقیقات پایه و مزایای بالقوهٔ آن را افزایش می‌دهد. در هر صورت توان فن‌آوری DNA و مهندسی ژنتیک (توانایی ما برای تغییر سریع و اساسی صفات در گونه‌هایی که طی هزاران سال تکامل یافته‌اند) می‌طلبد که با آرامش و احتیاط بیشتری به پیش رویم.

پرسش‌های مبحث ۳-۲۰

۱. مزیت استفاده از سلول‌های بنیادی برای ژن‌درمانی چیست؟

۲. حداقل سه ویژگی مختلف که توسط گیاهان زراعی از طریق مهندسی ژنتیک کسب می‌شود را نام ببرید.

۳. **چه می‌شد اگر؟** فرض کنید به‌عنوان یک پزشک بیماری دارید که علائم مطرح کنندهٔ عفونت هپاتیت A دارد. علائم می‌آیند و می‌روند ولی شما نتوانسته‌اید پروتئین ویروس را در خون شناسایی کنید. با توجه به اینکه هپاتیت A یک ویروس RNAدار است چه تست‌های آزمایشگاهی برای تأیید تشخیص خود انجام می‌دهید؟ توضیح دهید نتایج چه مفهومی خواهند داشت؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Super Weeds

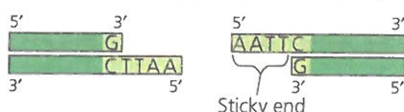
20 مرور فصل

خلاصهٔ مفاهیم کلیدی

۱-۲۰ کلون کردن DNA تولید چندین نسخه از یک ژن یا قطعه‌ای از DNA را میسر می‌سازد

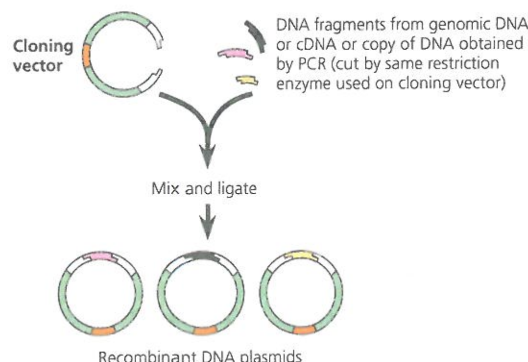
- **کلون کردن DNA** و دیگر تکنیک‌هایی که مجموعاً فن‌آوری DNA نامیده می‌شوند می‌توانند برای دستکاری و بررسی DNA و نیز تولید محصولات و جانداران مفید جدید به‌کار برده شود.

- **آنزیم‌های محدودکنندهٔ** باکتریایی، مولکول‌های DNA را در توالی‌های نوکلئوتیدی اختصاصی کوچکی برش داده و مجموعه‌ای از قطعات DNA دورشته‌ای با **انتهای چسبنده** ایجاد می‌کنند.



○ انتهاهای چسبنده در قطعات DNAی حاصل از یک مولکول با انتهاهای چسبندهٔ مکمل در مولکول‌های DNA دیگر، جفت‌باز تشکیل می‌دهند. آنزیم **DNA لیگاز** این قطعات جفت‌شده را متصل کرده و مولکول‌های **DNA نوترکیب** ایجاد می‌شود.

○ کلون کردن یک ژن یوکاریوتی در پلازمید باکتریایی:



وکتورهای کلون کردن شامل **پلازمیدها** و **کروموزوم‌های مصنوعی باکتریایی (BACs)** هستند. پلازمیدهای نوترکیب به سلول میزبان برگردانده می‌شود که هرکدام برای تبدیل شدن به یک مجموعهٔ سلولی (کلون) تقسیم می‌شوند. مجموعهٔ کلون‌ها به‌عنوان یا کتابخانهٔ ژنومیک DNAی مکمل (cDNA) ذخیره و نگهداری می‌شوند. این کتابخانه‌ها را می‌توان، با روش **دورگه‌سازی اسید نوکلئیک** با استفاده از یک **کاوشگر اسید نوکلئیکی**، برای یافتن ژن مورد نظر، غربالگری کرد.

○ چندین مشکل تکنیکی از بیان ژن‌های کلون شدهٔ یوکاریوتی در باکتری جلوگیری می‌کند. استفاده از سلول‌های یوکاریوتی به‌عنوان میزبان به رفع این مشکل کمک می‌کند.

○ ***واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز* (PCR)** با استفاده از پرایمرهایی که توالی دلخواه را تشخیص می‌دهد و آنزیم DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت، می‌تواند نسخه‌های زیادی از قطعهٔ اختصاصی هدف در DNA را تولید نماید.

؟ توضیح دهید که چگونه فرایند کلون کردن ژن باعث تولید کلون‌های سلولی حاوی پلازمید نوترکیب می‌شود.

۲۰-۲ فن‌آوری DNA به ما اجازه می‌دهد تا توالی، بیان و عملکرد یک ژن خاص را مطالعه کنیم

○ قطعات DNA با اندازه‌های مختلف با استفاده از **الکتروفورز در ژل** از یکدیگر جدا می‌شوند. قطعات اختصاصی با بهره‌گیری از روش **لکه‌گذاری ساترن** که در آن از کاوشگرهای نشانداری استفاده می‌شود که با DNA ثابت‌شده برروی لکهٔ روی ژل، دورگه می‌شوند، شناسایی می‌گردند. از **چندشکلی طولی قطعات برش یافته (RFLPs)** نیز برای غربالگری برخی از الل‌های بیماری‌زا، مثل الل کم‌خونی سلول داسی‌شکل استفاده می‌شود.

○ قطعات نسبتاً کوچک DNA را می‌توان با استفاده از روش اختتام زنجیره با دی‌دئوکسی که توسط ماشین‌های خودکار توالی‌یابی انجام می‌پذیرد، تعیین توالی نمود.

○ بیان یک ژن را می‌توان با استفاده از کاوشگرهای نشان‌دار که به‌دنبال mRNAهای خاص می‌گردند، چه برروی ژل (**لکه‌گذاری نورترن**)، و چه داخل یک جاندار کامل (**دورگه‌سازی درجا**) پیگیری نمود. همچنین RNA را می‌توان به cDNA توسط رونوشت‌بردار معکوس رونویسی کرد و cDNA را با پرایمرگرهای خاص تکثیر نمود (**RT-PCR**). **ریزآرایه** به محققان امکان می‌دهد تا بیان چندین ژن را در یک زمان در بافت‌های مختلف، زمان‌های مختلف و تحت شرایط متفاوت مقایسه کنند.

○ برای ژنی که عملکرد آن شناخته نشده است، غیرفعال‌سازی آزمایشی آن و مشاهدهٔ اثرات فنوتیپی حاصل، راهکارهایی برای یافتن فعالیت آن در اختیار می‌گذارد. در انسان‌ها، **مطالعات ارتباطی در سطح ژنوم از چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs)** به عنوان نشانگر، برای الل‌های مرتبط با بیماری‌های خاص استفاده می‌کند.

؟ جفت بازهای مکمل، اساس بسیاری از روش‌هایی است که برای آنالیز بیان ژن به‌کار می‌روند. توضیح دهید.

۲۰-۳ کلون کردن موجودات زنده ممکن است منجر به تولید سلول‌های بنیادی برای تحقیقات و کاربردهای دیگر شود

○ مطالعاتی که تعادل ژنومیک (اینکه همهٔ سلول‌های هر موجود دارای ژنوم یکسان هستند) را نشان می‌دهند، اولین نمونه‌های کلون کردن موجودات را ارائه دادند.

○ سلول‌های تمایزیافته از گیاهان بالغ اغلب قادرند که یک گیاه جدید کامل ایجاد کنند.

○ پیوند هستهٔ یک سلول جانوری تمایزیافته به یک تخمک بدون هسته می‌تواند باعث ایجاد یک جانور جدید شود.

○ سلول‌های بنیادی جنینی یا سلول‌های بنیادی بالغ که از جنین‌های حیوانی یا بافت‌های بالغ جدا شده‌اند می‌توانند تکثیر شوند و در آزمایشگاه یا در بدن موجود زنده تمایز یابند و برای کاربردهای پزشکی مورد استفاده قرار گیرند. سلول‌های ES، چند توان هستند اما به‌دست آوردنشان مشکل است. سلول‌های بنیادی چند توان (iPS) و سلول‌های ES نسبت به استعدادشان برای تمایز یافتن مشابهند. این سلول‌ها می‌توانند از سلول‌های تمایز یافتهٔ دوباره برنامه‌ریزی شده تولید شوند.

؟ با تمرکز بر چگونگی برنامه‌ریزی دوباره سلول‌ها و استفاده از موش‌ها به عنوان مثال و نمونه؛ توضیح دهید که یک محقق چگونه کلون کردن جاندار، تولید سلول‌های ES و تولید سلول‌های iPS را انجام می‌دهد. (روش‌ها در انسان و موش اساساً مشابهند).

۲۰-۴ کاربردهای عملی فن‌آوری DNA به شیوه‌های بسیاری زندگی ما را متأثر می‌سازد

○ فن‌آوری DNA شامل استفاده از آنالیز نشانگرهای ژنتیکی مثل SNPها، به‌طور روزافزونی برای تشخیص بیماری‌های ژنتیکی و سایر بیماری‌ها و همچنین برای درمان بهتر بیماری‌های ژنتیکی و حتی درمان همیشگی آنها استفاده می‌شود. تولید مقادیر بالای هورمون‌های پروتئینی و دیگر پروتئین‌های دارای استفاده‌های درمانی و همچنین واکسن‌های

بی‌خطرتر با فن‌آوری DNA امکان‌پذیر است. بعضی از پروتئین‌های درمانی در جانوران و گیاهان دارویی تولید شده‌اند.

- آنالیز نشانگرهای ژنتیکی مانند **تکرارهای متوالی کوتاه (STRs)** از DNAای که از بافت یا مایعات بدن یافت شده در صحنهٔ جرم جدا شده‌اند، مدارک قطعی به نفع گناهکار یا بی‌گناه بودن یک مظنون ارائه می‌کند. چنین بررسی‌هایی همچنین برای شناسایی والد واقعی و شناسایی بقایای قربانیان حوادث اخیر مفید است.
- جانداران مهندسی شده از نظر ژنتیکی می‌توانند به‌منظور استخراج مواد معدنی از محیط یا تجزیهٔ انواع زباله‌های بالقوه سمی استفاده شوند.
- هدف از ایجاد جانوران و گیاهان تراژن بهبود تولیدات کشاورزی و کیفیت غذایی است.
- همواره باید مزیت‌های بالای مهندسی ژنتیک را با خطرات بالقوهٔ خلق محصولات یا راه‌اندازی روش‌هایی که برای انسان و محیط مضر است، ارزیابی نمود.

چه عواملی برای اینکه آیا یک بیماری ژنتیکی مفروض نامزد خوبی برای یک ژن‌درمانی موفق هست یا نه، مؤثر است؟

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چندگزینه‌ای ۱ تا ۸ پاسخ دهید.*

۹- رسم کنید فرض کنید در حال ساخت کتابخانهٔ ژنومی برای مورچه‌خوار هستید و از پلازمید باکتریایی به‌عنوان وکتور استفاده می‌کنید. شکل سبز رنگی که در پایین نمایش داده شده پلازمید را نشان می‌دهد که حاوی جایگاه برش آنزیمی است که در شکل ۳-۲۰ استفاده شده است. بالای پلازمید منطقه‌ای از DNAی خطی مورچه‌خوار قرار دارد. مراحل کلون کردن خود را رسم کنید و نشان دهید که برای این دو مولکول در هر مرحله چه اتفاقی می‌افتد. برای DNAی مورچه‌خوار و بازهای آن از یک رنگ و برای پلازمید از رنگ دیگر استفاده کنید. هر مرحله را نام‌گذاری کنید.

5′ TCCATGAATTCTAAAGCGCTTATGAATTCACGGC 3′
3′ AGGTACTTAAGATTTCGCGAATACTTAAGTGCCG 5′

Aardvark DNA



Plasmid

۱۰- چه می‌شد اگر؟ فرض کنید می‌خواهید کریستالین‌های انسانی (همان پروتئینی که در عدسی چشم قرار دارد) را مطالعه کنید. برای به‌دست آوردن مقادیر کافی کریستالین تصمیم می‌گیرید تا ژن آن را کلون کنید. آیا یک کتابخانهٔ ژنومی یا یک کتابخانهٔ cDNAی مکمل می‌سازید؟ از چه موادی به‌عنوان منبع DNA یا RNA استفاده می‌کنید؟

۱۱- ارتباط تکاملی

اگر استفاده از فن‌آوری بر پایهٔ DNA فراگیر شود چگونه ممکن است در مسیری که تکامل پیش می‌رود، در مقایسه با مکانیسم‌های تکامل طبیعی که از چهار میلیارد سال پیش وجود داشته، تغییرات قابل توجهی ایجاد کند؟

۱۲- تحقیق علمی

اگر بخواهید ژن رمزکنندهٔ پروتئین انتقال‌دهندهٔ عصبی در سلول‌های مغز انسان را مطالعه کنید و توالی آمینواسیدی پروتئین آن را بدانید، توضیح دهید چگونه ممکن است: الف) ژن‌های بیان شده در نوع خاصی از سلول‌های مغزی را تعیین کنید؟ ب) ژن تولیدکنندهٔ انتقال‌دهندهٔ عصبی را مشخص سازید؟ ج) نسخه‌های زیادی را برای مطالعه تولید کنید؟ د) مقادیر مناسبی از پروتئین یاد شده را با هدف ارزیابی به‌عنوان یک درمان مفید تولید نمایید؟

۱۳- علم، فناوری و جامعه

آیا در حین ارزیابی و شناسایی ژن‌های مضر، خطر تبعیض بر این اساس وجود دارد؟ چه اقدامات امنیتی برای پیشگیری از این سوء استفاده‌ها پیشنهاد می‌کنید؟

۱۴- تخصیص بودجه به تحقیقات سلول‌های بنیادی جنینی از طرف دولت یک امر سیاسی مجادله‌آمیز بوده است. چرا این تحقیقات بسیار پر سر و صدا است؟ مباحثی که موافق و مخالف تحقیقات سلول‌های بنیادی جنینی هستند را به‌صورت خلاصه بیان کنید و جهت‌گیری خود را در این مورد توضیح دهید.

۱۵- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ کلمه) توضیح دهید که چگونه اساس ژنتیکی حیات نقش مهمی در فن‌آوری زیستی بازی می‌کند.

21

ژنوم‌ها و تکامل آن‌ها



شکل ۱-۲۱ چه اطلاعات ژنومی، یک شامپانزه را از یک انسان متمایز می‌سازد؟

مفاهیم کلیدی

۲۱-۱ راه‌کارهای جدید، به توالی‌یابی ژنوم سرعت بخشیده‌اند

۲۱-۲ دانشمندان از بیوانفورماتیک برای آنالیز ژنوم‌ها و عملکرد آنها استفاده می‌کنند

۲۱-۳ ژنوم‌ها از نظر اندازه، تعداد ژن‌ها و تراکم ژن‌ها با یکدیگر متفاوتند

۲۱-۴ یوکاریوت‌های پرسلولی، DNA غیررمزگذار و خانواده‌های چندژنی زیادی دارند

۲۱-۵ مضاعف‌شدگی، بازآرایی و جهش DNA به تکامل ژنوم کمک می‌کنند

۲۱-۶ مقایسهٔ توالی‌های ژنومی، سرنخ‌هایی از تکامل و تکوین به دست می‌دهد

نگاه کلی

خواندن برگ‌های درخت زندگی

شامپانزه، نزدیک‌ترین خویشاوند ما در درخت تکاملی حیات است. پسر بچهٔ **شکل ۱-۲۱** و شامپانزه‌اش در حال مطالعهٔ برگ‌های مشابهی هستند؛ اما فقط یکی از آنها قادر به صحبت دربارهٔ آن است. این اختلاف مابین این دو پریمات (نخستی) که این‌قدر تاریخچه تکاملی مشابه و مشترکی دارند چه ارزشی دارد؟ با ظهور شیوه‌های جدید برای توالی‌یابی سریع ژنوم، ما اکنون می‌توانیم پایهٔ ژنتیکی سؤال‌هایی مثل این را بیابیم.

ژنوم شامپانزه در سال ۲۰۰۵ توالی‌یابی شد، یعنی ۲ سال بعد از توالی‌یابی کامل ژنوم انسان. حال که می‌توانیم ژنوم خود را باز به باز، با ژنوم شامپانزه مقایسه کنیم، می‌توانیم به این مسألهٔ کلی‌تر بپردازیم که چه تفاوت‌هایی در اطلاعات ژنتیکی، مسئول صفات متفاوت این دو گونهٔ پریمات هستند.

علاوه بر تعیین توالی ژنوم انسان و شامپانزه، محققان توالی کامل ژنوم *E. coli* و تعداد زیادی از پروکاریوت‌های دیگر، به‌علاوهٔ تعداد زیادی از یوکاریوت‌ها، از جمله ساکارومایسز سرویزیه[1] (مخمر نان)، سینورابدیتیس الگانس[2] (یک کرم لوله‌ای)، دروزوفیلا ملانوگاستر[3] (مگس سرکه)، موس موسکولوس[4] (موش خانگی)و ماکاکا مولاتا[5] (میمون رزوس) را به‌دست آورده‌اند. در سال ۲۰۱۰، از یک توالی پیش‌نویس برای ژنوم هومو نئاندرتالنسیس[6]، یک گونهٔ منقرض‌شدهٔ بسیار نزدیک به انسان امروزی، خبر داده شد. این توالی‌های ژنومی کامل یا ناتمام، نه‌تنها در جای خود بسیار جالبند بلکه سرنخ‌های مهمی دربارهٔ تکامل و سایر فرایندهای زیستی به‌دست می‌دهند. بسط و توسعهٔ مقایسهٔ ژنوم انسان با شامپانزه در مقایسه با ژنوم سایر نخستی‌ها و حیوانات نزدیک‌تر می‌بایستی پرده از مجموعه ژن‌هایی بردارد که ویژگی‌هایی معرف گروه را کنترل می‌کنند. فراتر از این موضوع، مقایسهٔ ژنوم باکتری‌ها، ارکی‌باکتری‌ها، قارچ‌ها، آغازیان و گیاهان درک ما را دربارهٔ تاریخچهٔ تکاملی طولانی ژن‌های اجدادی مشترک و محصولات این ژن‌ها روشن می‌کند.

به‌وسیلهٔ توالی‌یابی کامل ژنوم بسیاری از گونه‌ها، محققان می‌توانند مجموعهٔ کامل ژن‌ها و برهمکنش آنها را مطالعه کنند، راه‌کاری که **ژنومیک**[7] نامیده می‌شود. فرایندهای توالی‌یابی که این

1- *Saccharomyces cerevisiae*
2- *Caenorhabditis elegans*
3- *Drosophila melanogaster*
4- *Mus musculus*
5- *Macaca mulatta*
6- *(Homo neanderthalensis)*
7- Genomics

روش را تغذیه می‌کنند، حجم بسیار زیادی از اطلاعات را تاکنون تولید کرده‌اند و به تولید کردن آنها ادامه می‌دهند. نیاز به پردازش این سیل افزایندهٔ اطلاعات، رشتهٔ جدیدی به‌نام **بیوانفورماتیک**[1] را به‌وجود آورده است، رشته‌ای که از روش‌های کامپیوتری برای نگهداری و آنالیز داده‌های زیستی استفاده می‌کند.

ما این فصل را با معرفی دو راه‌کار برای توالی‌یابی ژنوم و بعضی از پیشرفت‌ها و کاربردهای بیوانفورماتیک شروع می‌کنیم. سپس مسائلی را که از ژنوم‌های توالی‌یابی‌شده آموخته‌ایم، به‌طور خلاصه بیان خواهیم کرد. در قسمت بعدی، ترکیب ژنوم انسانی را به‌عنوان نمونه‌ای از یک یوکاریوت پرسلولی پیچیده توضیح خواهیم داد. در آخر، نظریه‌های موجود دربارهٔ چگونگی تکامل ژنوم و تأثیر تکامل مکانیسم‌های تکوینی در شکل‌گیری تنوع عظیم حیات موجود در زمین را بررسی خواهیم کرد.

۱-۲۱ راه‌کارهای جدید، به توالی‌یابی ژنوم سرعت بخشیده‌اند

توالی‌یابی ژنوم انسان، رسماً به‌عنوان **پروژهٔ ژنوم انسان**[2] در سال ۱۹۹۰ شروع شد. این پروژه، که شامل ۲۰ مرکز توالی‌یابی بزرگ در شش کشور، به‌علاوهٔ تعدادی آزمایشگاه‌های دیگر که روی پروژه‌های کوچک‌تر کار می‌کردند بود، با همکاری دانشمندان دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی به‌صورت بین‌المللی و با بودجهٔ عمومی سازماندهی شد.

بعد از اینکه توالی‌یابی ژنوم انسان در سال ۲۰۰۳ پایان یافت، توالی هر کروموزوم به‌دقت آنالیز شد و در یک مجموعه به چاپ رسید. آخرین قسمت این مجموعه کروموزوم ۱ را پوشش می‌داد و در سال ۲۰۰۶ منتشر شد. بعد از اتمام این مرحله، محققان توالی‌یابی را «واقعاً کامل» اعلام کردند. برای رسیدن به این اهداف، پروژه سه مرحلهٔ اساسی را پیمود که نماهای بسیار دقیق‌تری از ژنوم انسان را در اختیار ما قرار دادند: نقشه‌برداری پیوستگی[3]، نقشه‌برداری فیزیکی[4] و توالی‌یابی DNA[5].

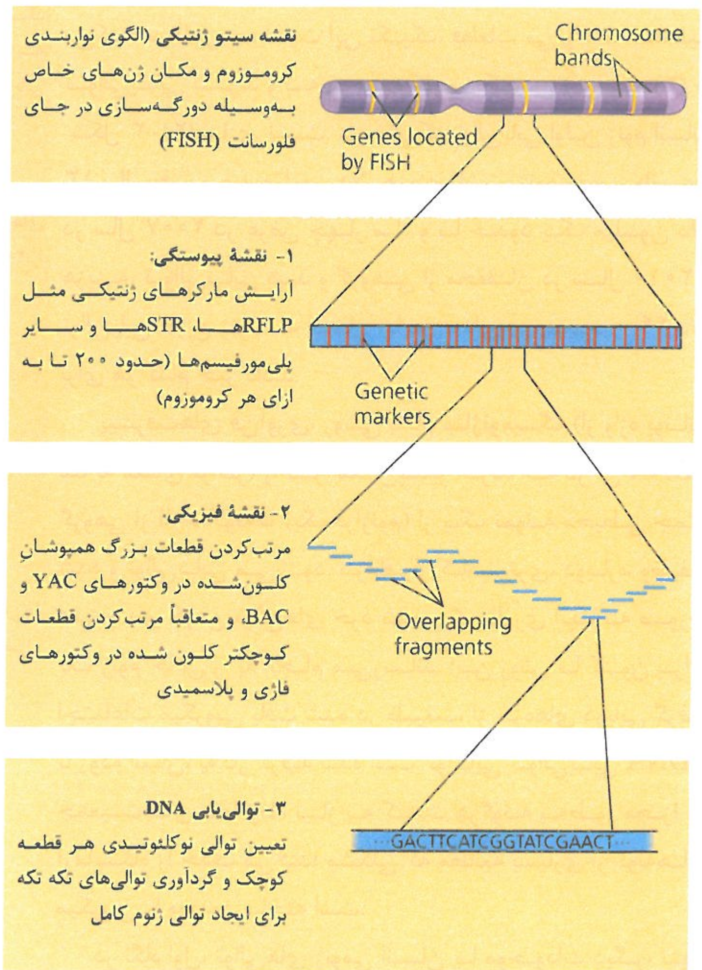
راه‌کار سه‌مرحله‌ای برای توالی‌یابی ژنوم

حتی قبل از اینکه پروژهٔ ژنوم انسان شروع شود، تحقیقات قبلی یک نقشهٔ کلی از ساختار ژنوم بسیاری از موجودات به‌دست داده بودند. برای مثال، تهیهٔ کاریوتیپ از بسیاری از گونه‌ها، تعداد کروموزوم آنها و الگوهای باندینگ آن کروموزوم‌ها را مشخص کرده بود (شکل ۳-۱۳ را ببینید). همچنین بعضی از ژن‌ها از قبل، روی یک منطقهٔ خاص از یک کروموزوم، با روش دورگه‌سازی فلوئورسنس درجا[6] (FLSH) مکان‌یابی شده بودند. در این روش، به کاوشگرهای نشان‌دار با مادهٔ فلوئورسنت اجازه داده می‌شود تا با تمام کروموزوم‌های تثبیت‌شده پیوند برقرار کنند (شکل ۱-۱۵ را ببینید). نقشه‌های سیتوژنتیک که با استفاده از این نوع اطلاعات به‌دست آمده بود، نقطهٔ شروعی برای نقشه‌برداری‌های دقیق‌تر پدید آورد.

با داشتن این نقشه‌های سیتوژنتیک، اولین قدم برای توالی‌یابی ژنوم انسان، ایجاد یک **نقشهٔ پیوستگی** (یک نوع نقشهٔ ژنتیکی؛ فصل ۱۵ را ببینید) از چندین هزار نشانگر ژنتیکی موجود در کروموزوم‌ها بود (**شکل ۲-۲۱**، مرحلهٔ ۱). ترتیب نشانگرها و فاصلهٔ نسبی بین آنها در چنین نقشه‌ای، برپایهٔ فراوانی‌های نوترکیبی می‌باشد. نشانگرها می‌توانند ژن‌ها یا هر توالی قابل شناسایی دیگر، مانند RFLPها یا توالی‌های تکرارشوندهٔ کوتاه (STRها) که در فصل ۲۰ به آنها اشاره شد باشند. تا سال ۱۹۹۲، محققان یک نقشهٔ پیوستگی از ژنوم انسان را با حدود ۵۰۰۰ نشانگر تهیه کرده بودند. چنین نقشه‌ای به آنها اجازه داد تا نشانگرهای دیگر، از جمله ژن‌ها را با استفاده از پیوستگی ژنتیکی آنها با نشانگرهای شناخته‌شده، مکان‌یابی کنند. این نقشه همچنین به‌عنوان چارچوبی برای ایجاد نقشه‌های دقیق‌تر از مناطق خاص ژنوم ارزشمند بود. اما، از فصل ۱۵ به یاد آورید که فواصل مطلق بین ژن‌ها با استفاده از این روش قابل شناسایی نیست.

مرحلهٔ بعدی، تهیهٔ **نقشهٔ فیزیکی** از ژنوم انسان بود. در یک نقشهٔ فیزیکی، فاصلهٔ بین نشانگرها به‌وسیلهٔ اندازه‌های فیزیکی که معمولاً تعداد جفت‌باز درطول DNA هستند، بیان می‌شود. برای نقشه‌برداری تمام ژنوم، DNA هر کروموزوم به تعدادی قطعات برشی، بریده می‌شود و سپس ترتیب اصلی این قطعات در DNA کروموزومی تعیین می‌شود. نکتهٔ کلیدی این است که قطعاتی تولید شوند که هم‌پوشانی داشته باشند. سپس با استفاده از کاوشگرها یا توالی‌یابیِ نوکلئوتیدیِ اتوماتیک انتهاها می‌توان این هم‌پوشانی‌ها را پیدا کرد (شکل ۲-۲۱، مرحلهٔ ۲). با این روش، قطعات در یک الگوی ترتیبی قرار می‌گیرند که متناظر با ترتیب آنها در یک کروموزوم است.

1- *Bioinformatics*
2- Human Genome Project
3- Linkage mapping
4- Physical mapping
5- DNA sequencing
6- Fluorescence in situ hybridization



شکل ۲-۲۱ راه‌کار سه‌مرحله‌ای برای توالی‌یابی کل ژنوم. *با استفاده از نقشهٔ سیتوژنتیک هر کروموزوم، محققان پروژهٔ ژنوم انسان، در سه مرحله برای رسیدن به هدف، یعنی توالی‌یابی کامل هر کروموزوم، پیش‌روی کردند.*

قطعات DNAای که برای نقشه‌برداری فیزیکی استفاده می‌شوند، به‌وسیلهٔ کلون‌سازی DNA تولید می‌گردند. محققان وقتی با ژنوم‌های بزرگ کار می‌کنند، چندین‌بار برش DNA، کلون‌سازی و نقشه‌برداری فیزیکی را انجام می‌دهند. اولین حامل کلون‌سازی اغلب یک کروموزوم مصنوعی مخمر (YAC) است که می‌تواند قطعهٔ وارد شده‌ای به طول یک میلیون جفت‌باز را حمل کند. همچنین از کروموزوم مصنوعی باکتری (BAC) استفاده می‌شود که معمولاً قادر است قطعاتی به‌طول ۱۰۰,۰۰۰ تا ۳۰۰,۰۰۰ جفت‌باز را حمل کند. بعد از اینکه چنین قطعات بلندی به ترتیب قرار گرفتند، هر قطعه به تکه‌های کوچک‌تری بریده می‌شود. این قطعات کوچک‌تر درون پلاسمیدها یا فاژها کلون‌سازی می‌شوند، به ترتیب قرار می‌گیرند و نهایتاً توالی‌یابی می‌شوند.

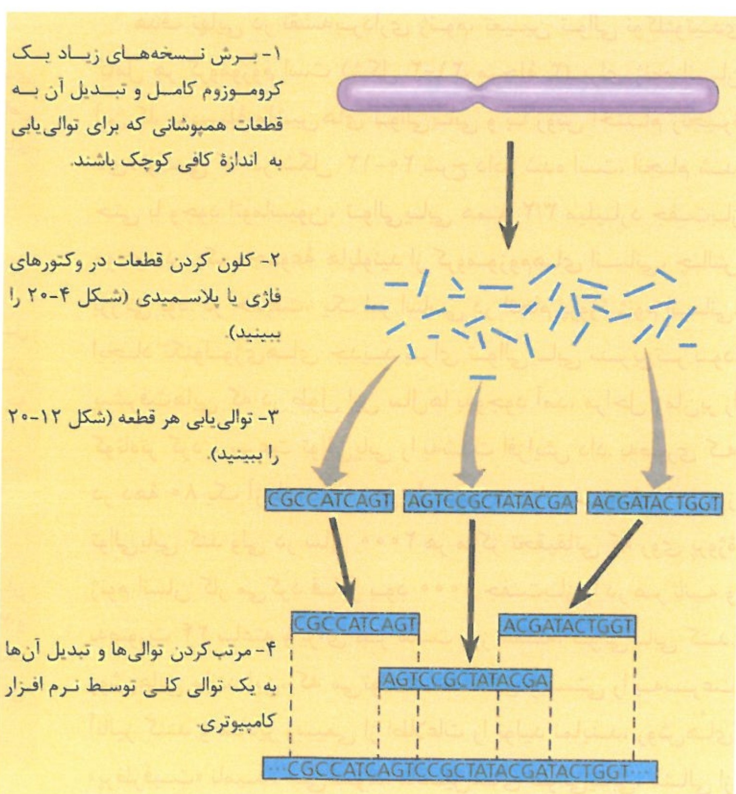
هدف نهایی در نقشه‌برداری ژنوم، تعیین توالی نوکلئوتیدی کامل هر کروموزوم است (شکل ۲-۲۱، مرحلهٔ ۳). برای ژنوم انسان این کار به‌وسیلهٔ ماشین‌های توالی‌یابی و با روش اختتام زنجیرهٔ دی‌دئوکسی که در شکل ۱۲-۲۰ شرح داده شده است، انجام شد. حتی با وجود اتوماسیون، توالی‌یابی همهٔ ۳/۲ میلیارد جفت‌باز موجود در یک مجموعهٔ هاپلوئید از کروموزوم‌های انسانی، چالش بزرگی بود. در حقیقت، یک امر اساسی در انجام پروژهٔ ژنوم انسانی، ایجاد تکنولوژی‌های جدید برای توالی‌یابی سریع‌تر بود. پیشرفت‌هایی که در طول این سال‌ها به‌وجود آمد، مراحل زمان‌بر را کوتاه‌تر کرد و سرعت توالی‌یابی را به‌شدت افزایش داد. به‌طوری که در دههٔ ۸۰ یک آزمایشگاه می‌توانست ۱۰۰۰ جفت‌باز را در روز توالی‌یابی کند ولی در سال ۲۰۰۰ هر مرکز تحقیقاتی که روی پروژهٔ ژنوم انسان کار می‌کرد قادر بود ۱۰۰۰ جفت‌باز را در هر *ثانیه* و به‌صورت ۲۴ ساعته و برای هر هفت روز هفته، توالی‌یابی کند. روش‌هایی مانند این، که می‌توانند داده‌های زیستی را به‌سرعت آنالیز کنند و مقادیر وسیعی از اطلاعات را تولید نمایند، روش‌های «پرظرفیت» نامیده می‌شوند. ماشین‌های توالی‌یابی، مثالی از تجهیزات پرظرفیت هستند.

در عمل، سه مرحله‌ای که در شکل ۲-۲۱ نشان داده شده‌اند، به نحوی هم‌پوشانی دارند که نسخهٔ سادهٔ ما آن را نشان نمی‌دهد. ولی اصول کلی به‌کار رفته در پروژهٔ ژنوم انسان به درستی نشان داده شده‌اند. در طول انجام پروژه، یک راهبرد جایگزین برای توالی‌یابی ژنوم به‌وجود آمد که به علت کارآیی بالای آن به‌خوبی پذیرفته شد.

روش شات‌گان تمام ـ ژنوم[1] برای توالی‌یابی

در سال ۱۹۹۲، زیست‌شناس مولکولی آقای جی کریگ ونتر[2]، با توجه به پیشرفت‌هایی که در زمینهٔ توالی‌یابی و فن‌آوری کامپیوتری به‌وجود آمده بود، یک روش جایگزین برای توالی‌یابی تمام ژنوم پیشنهاد کرد. این روش که *روش شات‌گان تمام ـ ژنوم* نامیده می‌شود، مراحل نقشه‌برداری پیوستگی و نقشه‌برداری فیزیکی را انجام نمی‌دهد و به‌طور مستقیم به توالی‌یابی قطعات تصادفی DNA می‌پردازد. سپس برنامه‌های کامپیوتری قوی این تعداد بسیار زیاد از قطعات هم‌پوشان را به هم وصل می‌کنند و یک توالی پیوستهٔ واحد ایجاد می‌شود (**شکل ۳-۲۱**). با وجود انتقادات بسیار دانشمندان، ارزش روش ونتر در سال ۱۹۹۵ آشکار شد، یعنی زمانی‌که او و همکارانش برای اولین‌بار توالی کامل ژنوم باکتری *هموفیلوس آنفلوآنزا*

1- Whole- genome shotgun approach
2- J. Craig Venter



▶ شکل ۳-۲۱ **راه‌کار شات‌گان کل ژنوم برای توالی‌یابی.** *در این راه‌کار که توسط کریگ ونتر و همکارانش در شرکت سلرا ژنومیکس پایه‌گذاری شد، قطعات DNA تصادفی، توالی‌یابی می‌شوند و سپس نسبت به یکدیگر، مرتب می‌گردند. این روش را با روش سه‌مرحله‌ای نشان داده شده در شکل ۲-۲۱ مقایسه کنید.*

؟ قطعات موجود در مرحلهٔ دو این شکل، به‌صورت پراکنده نشان داده شده‌اند، درحالی‌که قطعات موجود در مرحلهٔ دو شکل ۲-۲۱ به‌شکل مرتب‌تری به نمایش درآمده‌اند. این دو نمایش چه چیزی را در مورد این دو راه‌کار انعکاس می‌دهد؟

را گزارش دادند. در سال ۱۹۹۸، او یک شرکت به‌نام سلرا ژنومیک[1] تأسیس کرد و هدف خود را توالی‌یابی کامل ژنوم انسان اعلام نمود. پنج سال بعد، سلرا ژنومیک و ائتلاف عمومی هر دو به‌طور همزمان اعلام کردند که توالی‌یابی ژنوم انسان به‌طور کامل انجام پذیرفته است، یعنی دو سال قبل از موعد مقرر برای اتمام پروژهٔ ژنوم انسان.

امروزه از روش شات‌گان کل ژنوم به‌طور وسیعی استفاده می‌شود. همچنین، توسعهٔ تکنیک‌های جدیدتر توالی‌یابی، که عموماً *توالی‌یابی به‌وسیله ساختن*[2] (فصل ۲۰ را ببینید) خوانده می‌شوند، باعث افزایش بسیار زیاد سرعت و کاهش هزینهٔ توالی‌یابی کامل ژنوم شده است. در این تکنیک‌های جدید، قطعات بسیار کوچک زیادی (با طول کمتر از صد جفت باز) در یک زمان واحد توالی‌یابی می‌شوند و نرم‌افزار کامپیوتری با سرعت توالی کامل را سرهم می‌کند. به‌خاطر حساسیت این تکنیک، قطعات می‌توانند مستقیماً توالی‌یابی شوند و به مرحله کلون کردن (مرحله (۲) در شکل ۳-۲۱) نیازی نیست. در حالی‌که توالی‌یابی اولین ژنوم انسانی ۱۳ سال وقت و صد میلیون دلار هزینه داشت، ژنوم جیمز واتسون در سال ۲۰۰۷ در عرض چهار ماه و با حدود یک میلیون دلار هزینه، توالی‌یابی شد و گروهی از محققان در سال ۲۰۱۰ از توالی‌یابی سریع ژنوم سه انسان با هزینه‌ای در حدود ۴۴۰۰ دلار برای هر کدام خبر دادند.

پیشرفت‌های فن‌آوری، روشی به‌نام **متاژنومیک** (از واژه یونانی متا به معنای فراتر) را نیز امکان‌پذیر کرده که در آن DNAی گروهی از افراد گونه‌ها (یک فراژنوم) از یک نمونهٔ محیطی جمع شده و توالی‌یابی می‌شود. نرم‌افزار کامپیوتری، دوباره، وظیفهٔ دسته‌بندی کردن توالی‌های خرد شده و گردآوری آنها به صورت یک ژنوم خاص را به انجام می‌رساند. این روش تا کنون برای اجتماعات میکروبی یافت شده در طبیعت، از خزه‌های دریایی گرفته تا روده انسان، به‌کار گرفته شده است. توانایی توالی‌یابی DNAی جمعیت‌های مخلوط، نیاز به کشت هرگونه به‌طور مجزا در آزمایشگاه را حذف می‌کند؛ مشکلی که مطالعهٔ بسیاری از گونه‌های میکروبی را محدود ساخته است.

در نگاه اول، توالی‌های ژنومی انسان یا موجودات دیگر، تنها فهرستی از بازهای نوکلئوتیدی هستند، میلیون‌ها A، T، C و G که معنایی ندارند. برای معنادار شدن این مقدار عظیم اطلاعات، روش‌های جدیدی برای آنالیز به‌وجود آمده‌اند که در قسمت بعدی در مورد آنها بحث می‌کنیم.

پرسش‌های مبحث ۱-۲۱

۱. تفاوت اساسی بین نقشهٔ پیوستگی و نقشهٔ فیزیکی یک کروموزوم چیست؟

۲. در کل، راه‌کاری که برای نقشه‌برداری پروژهٔ ژنوم انسانی استفاده شده چه تفاوتی با راه‌کار شات‌گان کل ژنوم دارد؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** فرض کنید می‌خواهید ژنوم یک موش صحرایی را توالی‌یابی کنید، گونه‌ای که بسیار به موش آزمایشگاهی که قبلاً ژنوم آن توالی‌یابی شده است، شباهت دارد. چرا در اختیار داشتن توالی موش آزمایشگاهی، شما را به سمت استفاده از روش شات‌گان کل ژنوم هدایت می‌کند، نه راه‌کار سه‌مرحله‌ای؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- Celera Genomics
2- Sequencing by synthesis

۲-۲۱ دانشمندان از بیوانفورماتیک برای آنالیز ژنوم‌ها و عملکرد آنها استفاده می‌کنند

هریک از ۲۰ مرکز توالی‌یابی که روی پروژهٔ ژنوم انسان فعالیت می‌کردند، هر روز مقادیر وسیعی از توالی‌های DNA را تولید می‌کردند. همین‌طور که داده‌ها بیشتر می‌شد، نیاز برای ایجاد روش متناسبی برای نگه‌داری این داده‌ها بیشتر حس می‌شد. دوراندیشی دانشمندان و مسئولان دولتی که در پروژهٔ ژنوم انسان حضور داشتند باعث شد تا بانک‌های اطلاعاتی یا پایگاه‌های داده و یک نرم‌افزار آماری مناسب به این منظور ایجاد شود. سپس این بانک‌های اطلاعاتی و نرم‌افزارها به‌صورت متمرکز در آمدند و با سهولت بیشتری روی اینترنت در دسترس قرار گرفتند. انجام این کار، پیشرفت آنالیز توالی‌های DNA را سرعت بخشید زیرا منابع بیوانفورماتیک را برای محققان سراسر دنیا قابل دسترس ساخت و منتشر شدن اطلاعات را تسریع کرد.

منابع متمرکز برای آنالیز توالی‌های ژنوم

نمایندگی‌های با بودجهٔ دولتی، بانک‌های اطلاعاتی را ایجاد کردند و نرم‌افزارهایی تولید نمودند که دانشمندان با استفاده از آنها بتوانند داده‌های توالی‌یابی‌شده را آنالیز کنند. برای مثال در ایالات متحده، یک تلاش بین کتابخانهٔ ملی پزشکی و مؤسسهٔ ملی سلامت (NIH) منجر به ایجاد مرکز ملی اطلاعات تکنولوژی زیستی (NCBI) شد. این مرکز دارای یک وب‌سایت (www.ncbi.nlm.nih.gov) با مقادیر گسترده‌ای از منابع بیوانفورماتیک می‌باشد. در این سایت، لینک‌هایی به بانک‌های اطلاعاتی و نرم‌افزارها و اطلاعات ارزشمندی دربارهٔ ژنومیک و موضوعات مشابه دیگر وجود دارد. وب‌سایت‌های مشابه دیگری به‌وسیلهٔ آزمایشگاه بیولوژی مولکولی اروپایی، بانک اطلاعات DNA ژاپن، و BGI در شنزن چین به‌وجود آمده‌اند. NCBI با این دو مرکز همکاری می‌نماید. این وب‌سایت‌های بزرگ با یک سری وب‌سایت‌های دیگر که توسط آزمایشگاه‌های فردی یا گروهی ایجاد شده‌اند، تکمیل می‌شوند. وب‌سایت‌های کوچک‌تر اغلب اطلاعات و نرم‌افزارهایی ارائه می‌کنند که برای اهداف محدودتری مانند مطالعهٔ ژنتیک و تغییرات ژنومی یک نوع خاص از سرطان طراحی شده‌اند.

پایگاه اطلاعاتی توالی‌های NCBI، بانک ژن[1] نامیده می‌شود. در می سال ۲۰۱۰، این پایگاه توالی‌های ۱۱۹ میلیون قطعهٔ DNA ژنومی یعنی در کل ۱۱۴ میلیارد جفت‌باز را در خود جای داده بود. بانک ژن دائماً به‌روز می‌شود و تخمین زده می‌شود که حجم داده‌های آن حدوداً هر ۱۸ ماه دو برابر می‌گردد. هر توالی از این پایگاه اطلاعاتی را می‌توان به‌دست آورد و به‌وسیلهٔ نرم‌افزارهای NCBI یا هر نرم‌افزار دیگری آنالیز نمود.

یکی از نرم‌افزارهایی که در وب‌سایت NCBI وجود دارد و BLAST نامیده می‌شود، به بازدیدکننده امکان می‌دهد تا یک توالی از DNA را با هر توالی موجود در بانک ژن، باز به باز مقایسه کند و مناطق مشابه را جستجو نماید. یک برنامهٔ دیگر امکان مقایسهٔ توالی‌های پروتئینی پیش‌بینی‌شده را فراهم می‌کند. برنامهٔ دیگری نیز وجود دارد که می‌تواند هر توالی پروتئینی دلخواه را از نظر وجود دُمین‌های (قطعات آمینواسیدی مشترک) مربوط به یک عملکرد شناخته‌شده یا مورد تردید بررسی نماید، همچنین قادر است یک مدل سه‌بعدی از آن دُمین و همچنین یک‌سری اطلاعات مرتبط دیگر ارائه دهد (**شکل ۴-۲۱**). حتی یک برنامهٔ نرم‌افزاری وجود دارد که می‌تواند مجموعه‌ای از توالی‌ها، چه نوکلئیک اسیدی و چه پلی‌پپتیدی را مقایسه کند و آنها را به‌صورت یک درخت تکاملی برپایهٔ ارتباطات توالی‌ها نمایش دهد.

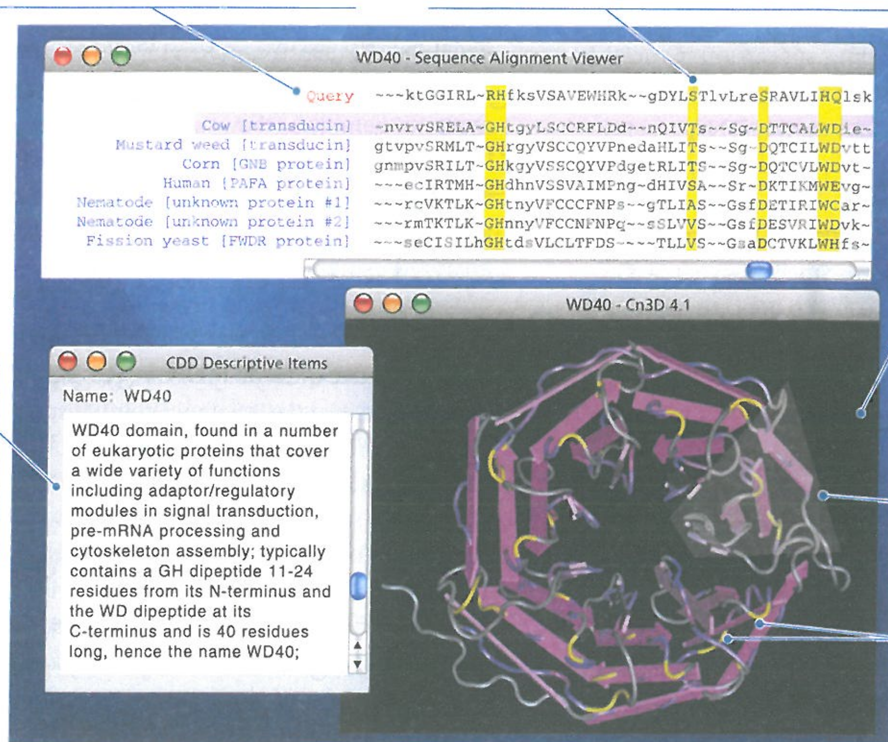
دو مؤسسه تحقیقاتی، دانشگاه روتگرز (Rotgers) و دانشگاه کالیفرنیا، سن دیگو، نیز یک بانک اطلاعاتی پروتئینی جهان‌گستر را ایجاد کرده‌اند؛ این پایگاه، داده‌های تمامی ساختارهای سه‌بعدی پروتئین‌هایی که مشخص شده‌اند را در اختیار قرار می‌دهد. (این پایگاه داده در نشانی زیر قابل دسترس است: www.wwpdb.org) این ساختارها می‌توانند توسط بیننده برای دیدن همهٔ اطراف و دور تا دور پروتئین چرخانده شوند.

مقادیر وسیعی اطلاعات قابل دسترس در سراسر دنیا برای محققان قابل استفاده است. حال بیایید انواع سؤالاتی را بررسی کنیم که دانشمندان با استفاده از این منابع می‌توانند به آنها پاسخ دهند.

تشخیص ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین و درک عملکرد آنها

با در اختیار قرار گرفتن توالی‌های DNA، محققان ژنتیک می‌توانند ژن‌ها را به‌طور مستقیم مطالعه کنند، بدون اینکه ناچار باشند همانند ژنتیک کلاسیک، ژنوتیپ را از روی فنوتیپ حدس بزنند. ولی این راه‌کار (به نام ژنتیک معکوس) با یک چالش جدید روبه‌روست: تعیین فنوتیپ از روی ژنوتیپ. به‌طور مثال با یک توالی DNA بلند که از بانک ژن به‌دست آورده‌ایم چگونه می‌توانیم ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین را در آن تشخیص دهیم و عملکرد آنها را تعیین نماییم؟ این فرایند، **تفسیر ژن** نامیده می‌شود.

1- Genbank



شکل ۴-۲۱ ابزارهای بیوانفورماتیک که در اینترنت در دسترسند. *یک وب‌سایت که توسط مرکز ملی اطلاعات تکنولوژی زیستی ایجاد شده است به دانشمندان و عموم افراد امکان می‌دهد تا به توالی‌های DNA و پروتئین‌ها و سایر اطلاعات نگهداری شده، دسترسی داشته باشند. این سایت یک لینک به پایگاه اطلاعاتی ساختار پروتئین (پایگاه دُمین‌های حفظ‌شده، CDD) دارد که می‌تواند دُمین‌های مشابه مرتبط ب[ا] پروتئین مورد نظر را بیابد و توضیح دهد. همچنین لینکی به نرم‌افزار Cn3D وجود دار[د] که مدل سه‌بعدی دُمین‌ها را برای ساختارهای تعیین شده، نشان می‌دهد. نتایج حاصل [از] جستجوی یک پروتئین در اینجا نشان داده شده‌اند.*

در گذشته، تفسیر ژن با زحمت زیاد توسط دانشمندانی که به ژن‌های خاصی علاقمند بودند انجام می‌شد، اما امروزه این فرایند در ابعاد وسیعی خودکار و ماشینی شده است. راه‌کار معمول به این صورت است که نرم‌افزار، این توالی‌ها را از نظر وجود علائم شروع و پایان رونویسی و ترجمه، مکان‌های پیرایش RNA و سایر علائم ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین، جستجو می‌کند. نرم‌افزار همچنین توالی‌های کوتاه خاصی را جستجو می‌کند که مربوط به توالی‌های موجود در RNAهای پیک شناخته‌شده هستند. هزارها از چنین توالی‌هایی که علائم توالی بیان‌شده[1] یا EST نامیده می‌شوند، از توالی‌های cDNA جمع‌آوری شده و در پایگاه‌های اطلاعاتی کامپیوتری بایگانی شده‌اند. این روش آنالیز می‌تواند توالی‌هایی را شناسایی کند که قبلاً به‌عنوان ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین شناخت[ه] نشده بودند.

هویت حدود نیمی از ژن‌های انسان قبل از شروع پروژهٔ ژنو[م] انسان شناخته شده بود. ولی بقیه چطور؟ یعنی ژن‌هایی که قب[لاً] ناشناخته بودند و با آنالیز توالی‌های DNA آشکار شدند؟ ایده‌های[ی] برای شناسایی هویت این ژن‌ها از طریق مقایسهٔ آنها با ژن‌ها[ی] شناخته‌شدهٔ موجودات دیگر، با استفاده از نرم‌افزارهایی که قبلاً د[ر] مورد آنها توضیح داده شد، وجود دارد. به علت توالی‌های غیررم[ز] شوندهٔ موجود در مادهٔ ژنتیک، خود DNA تنوع بیشتری نسبت ب[ه] توالی‌های پروتئینی دارد. بنابراین دانشمندان علاقمند به پروتئین[ها] اغلب توالی آمینواسیدیِ پیش‌بینی‌شدهٔ پروتئین را با پروتئین‌ها[ی] دیگر مقایسه می‌کنند.

1- Expressed sequence tags

گاهی یک توالی تازه شناخته‌شده، حداقل به‌طور نسبی با توالی یک ژن یا پروتئین که عملکرد شناخته‌شده دارد، مطابقت پیدا می‌کند. برای مثال، قسمتی از یک ژن جدید با ژنی که یک پروتئینِ مسیرهای پیام‌رسانی مهم، مانند یک پروتئین کیناز را رمز می‌کند، مطابقت دارد (فصل ۱۱ را ببینید). این مطلب بیانگر این است که ژن جدید هم همین عملکرد را داراست. همچنین ممکن است ژن جدید شبیه توالی دیگری باشد که عملکرد آن هم ناشناخته باشد. احتمال دیگر این است که توالی جدید کاملاً متفاوت از هر توالی شناخته‌شدهٔ دیگر باشد. این مطلب در مورد یک سوم ژن‌های *E. coli* هنگام توالی‌یابی ژنوم آن مشخص شد. در مورد آخر، عملکرد پروتئین معمولاً از ترکیب مطالعات بیوشیمیایی و عملکردی اقتباس می‌شود. روش‌های بیوشیمیایی، ساختار سه‌بعدی پروتئین به‌علاوهٔ ویژگی‌های دیگر مانند مکان‌های اتصال بالقوهٔ آن را برای مولکول‌های دیگر تعیین می‌کند. مطالعات عملکردی معمولاً شامل مسدود کردن یا غیرفعال کردن ژن و دیدن نتیجهٔ آن روی فنوتیپ است. RNAi که در فصل ۲۰ توضیح داده شد، مثالی از روش تجربی است که برای غیرفعال کردن عملکرد ژن استفاده می‌شود.

شناخت ژن‌ها و محصولات آنها در سطح سیستم‌ها

قدرت شگرف محاسباتی که با ابزار بیوانفورماتیک مهیا شده است، اجازه می‌دهد تا علاوه بر مقایسهٔ ژنوم‌های گونه‌های مختلف، مجموعهٔ کامل ژن‌ها و برهمکنش بین آنها را مطالعه کنیم. ژنومیکس، منبع غنی‌ای از ایده‌های جدید برای سؤالات اساسی دربارهٔ ساختار ژنوم، تنظیم بیان ژن، رشد و نمو و تکامل می‌باشد.

یک روش مفید و دارای اطلاعات ارزنده به‌وسیله طرحی به نام ENCODE (دایرةالمعارف عناصر DNA) به کار گرفته شده است که در سال ۲۰۰۳ آغاز گردید. ابتدا، محققان شدیداً بر ۱٪ ژنوم انسان تمرکز کرده و تلاش کردند که دربارهٔ همهٔ عناصر مهم عملکردی بیاموزند. آنها به‌دنبال ژن‌های کد کنندهٔ پروتئین، ژن‌های مربوط به RNAهای غیر رمزگذار، توالی‌های تنظیم کنندهٔ رونویسی DNA (مثل افزاینده‌ها و راه‌اندازها) و توالی‌های تنظیم کنندهٔ تغییر و تبدیلات کروماتین گشتند. طرح راهبر، که در سال ۲۰۰۷ کامل شده است، در بردارنده اطلاعاتی بسیار با ارزش است. شگفتی بزرگی که در مبحث ۳-۱۸ هم به آن اشاره شد، بر این نکته اذعان داشت که بیشتر از ۹۰ درصد مناطق DNA به RNA رونویسی می‌شوند گرچه کمتر از ۲ درصد رمز پروتئین‌ها هستند. موفقیت این روش باعث ایجاد دو طرح دیگر شد. یکی توسعهٔ آنالیز و تحلیل ژنوم کامل انسان و دیگری تحلیل ژنوم دو موجود مدل، کرم لوله‌ای خاک‌زی به نام *Caenorhabditis elegans* و مگس سرکه دروزوفیلا (*Drosophila*). به سبکی کاملاً مشابه به خاطر اینکه تحقیقات ژنتیکی و مولکولی بر روی این‌گونه‌ها انجام‌پذیر هستند، آزمایش فعالیت عناصر بالقوه فعال در DNAی ژنوم آنها از چگونگی عملکرد ژنوم انسان بیشتر پرده برخواهد داشت.

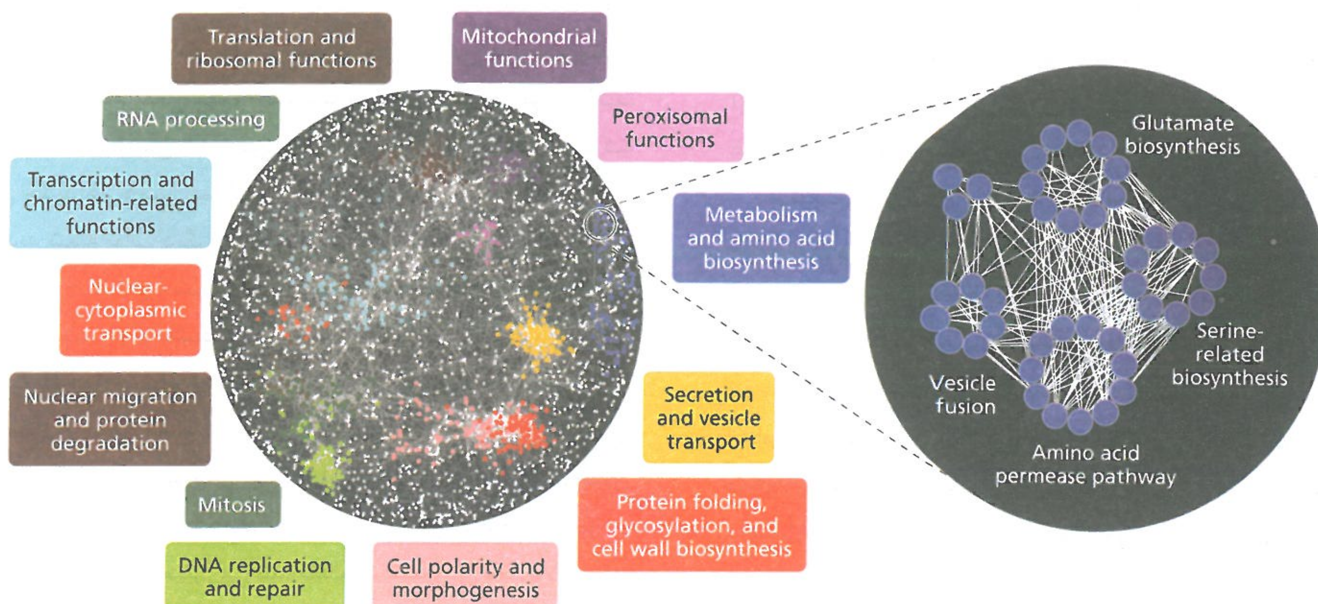
موفقیت در توالی‌یابی ژنوم‌ها و مطالعهٔ مجموعهٔ کامل ژن‌ها، دانشمندان را برای انجام مطالعات سیستماتیک مشابه روی مجموعهٔ کامل پروتئین‌ها (*پروتئوم‌ها*[1]) که توسط ژنوم رمز می‌شوند تشویق کرده است، راه‌کاری که **پروتئومیکس**[2] نامیده می‌شود. پروتئین‌ها، (نه ژن‌هایی که آنها را رمز کرده‌اند)، بیشتر فعالیت‌های سلول را انجام می‌دهند. بنابراین ما باید زمان و مکانی که پروتئین‌ها در یک موجود زنده تولید می‌شوند و برهمکنش این پروتئین‌ها در شبکه‌ها را به منظور درک عملکرد سلول‌ها و موجودات زنده مطالعه کنیم.

سیستم‌ها چگونه مطالعه می‌شوند: یک مثال

ژنومیکس و پروتئومیکس، زیست‌شناسان را قادر ساخته‌اند تا راه‌کار جدیدی برای مطالعهٔ حیات به‌کار ببرند. زیست‌شناسان با استفاده از ابزارهایی که در مورد آنها توضیح دادیم، شروع به جمع‌آوری فهرست‌هایی از ژن‌ها و پروتئین‌ها نموده‌اند که به درک عملکرد سلول‌ها، بافت‌ها و موجودات کمک می‌کنند. با در دست داشتن چنین فهرست‌هایی، محققان توجه خود را به‌جای قسمت‌های مجزا، به عملکرد یکپارچهٔ آنها در سیستم‌های زنده معطوف ساخته‌اند. به‌یاد آورید که در فصل ۱ ما دربارهٔ راه‌کار بیولوژی سیستم‌ها که رفتار پویای سیستم‌های بیولوژیک را به‌طور کامل نمایش می‌دهد، بحث کردیم.

یک کاربرد پایهٔ راه‌کار بیولوژی سیستم‌ها، تعیین مدارهای ژنی و شبکه‌های برهمکنش پروتئین‌هاست. برای تعیین نقشهٔ شبکهٔ برهمکنش پروتئینی در ساکارومایسز سرویزیه، محققان از روش‌های بسیار پیشرفته‌ای برای ناتوان‌سازی جفت ژن‌ها استفاده کردند به‌طوری‌که ناتوان‌سازی یک جفت ژن در یک زمان، سلول‌های دو جهشه ایجاد شدند. سپس سازگاری هر کدام از دوجهشی‌ها را (براساس اندازهٔ کلونی سلولی‌ای که تشکیل شده) با آنچه از سازگاری جهش‌یافته‌هایی با یک جهش منفرد و مجزا پیش‌بینی می‌شد، مقایسه کردند. محققان استدلال کردند که اگر سازگاری مشاهده شده با سازگاری قابل انتظار جور در بیاید، پس محصولات دو ژن با همدیگر برهمکنشی ندارند؛ اما اگر سازگاری مشاهده‌شده

1- Proteomes
2- Proteomics



شکل ۵-۲۱ راه‌کار بیولوژی سیستم‌ها برای یافتن برهمکنش بین پروتئین‌ها. *این نقشهٔ کلی برهمکنش‌های پروتئینی، مجموعه‌ای از شایع‌ترین برهمکنش‌ها (خطوط) در بین ۴۵۰۰ پروتئین (دایره‌های کوچک) در ساکارومایسز را نشان می‌دهد. دایره‌هایی که رنگ یکسان دارند نمایانگر محصولات ژنی یکی از سیزده عملکردی است که در اطراف نقشه ردیف شده‌اند. عکس بزرگ شده، جزئیات یک منطقه از نقشه را نشان می‌دهد که محصولات ژنی (دایره‌های آبی) ساخت، جذب و عملکردهای مرتبط با آمینواسیدهای را انجام می‌دهند.*

بسیار کوچک‌تر یا بزرگ‌تر از سازگاری قابل انتظار باشد، محصولات ژن‌ها در سلول با هم برهمکنش دارند. سپس نرم‌افزار کامپیوتری ژن‌ها را براساس تشابه برهمکنش‌هایشان نقشه‌برداری کرد. یک شبکه مثل «نقشهٔ عملکردی» از این برهمکنش‌های ژنتیکی، در **شکل ۵-۲۱** نمایش داده شده است. پردازش تعداد زیاد برهمکنش‌های پروتئین – پروتئین که توسط این آزمایش ایجاد شد و گردآوری آنها به صورت یک نقشهٔ کامل‌شده، به کامپیوترهای قدرتمند، ابزار ریاضی و نرم‌افزارهای جدید نیاز داشت پس، روش زیست‌شناسی سیستم‌ها واقعاً به‌وسیله پیشرفت‌های فن‌آوری کامپیوتر و بیوانفورماتیک ممکن شده است.

کاربرد بیولوژی سیستم‌ها در پزشکی

اطلس ژنوم سرطان[1] یک مثال دیگر از بیولوژی سیستم‌هاست که در آن گروه بزرگی از ژن‌ها و محصولات ژنی که باهم در تعاملند، آنالیز شده‌اند. این پروژه که به رهبری مؤسسه ملی سرطان و NIH انجام شده است، برای درک تأثیر تغییر سیستم‌های زیستی در ایجاد سرطان فعالیت می‌کند. در یک پروژهٔ سه‌ساله که از سال ۲۰۰۷ تا کنون در حال انجام است، سه نوع سرطان یعنی سرطان ریه، سرطان تخمدان و گلیوبلاستومای مغز مورد بررسی قرار می‌گیرند. در این بررسی، توالی‌های ژنی و الگوهای بیان ژن در سلول‌های سرطانی و سلول‌های طبیعی باهم مقایسه می‌شوند. کار روی گلیوبلاستوما نقش چندین ژن مظنون را تأیید کرده و چند ژن ناشناخته را نیز مورد شناسایی قرار داده است و بنابراین اهداف جدید مناسب درمان را پیشنهاد می‌کند. روشی که برای این سه نوع سرطان این‌قدر مفید بوده است، برای ده نوع دیگر نیز توسعه یافته است؛ زیرا سرطان‌هایی بسیار رایج و اغلب برای انسان کشنده هستند.

بیولوژی سیستم‌ها پتانسیل عظیمی در زمینهٔ پزشکی دارد. تراشه‌های سیلیکونی و شیشه‌ای ساخته شده‌اند که ریزآرایه‌ای از بیشتر ژن‌های انسانی شناخته‌شده را نگهداری می‌کنند **(شکل ۶-۲۱)**.

1- Cancer Genome Atlas

این تراشه‌ها برای آنالیز کردن الگوهای بیان ژن در بیمارانی که از سرطان‌های مختلف یا بیماری‌های دیگر رنج می‌برند، استفاده شده‌اند. هدف نهایی این تراشه‌ها کشف درمان‌هایی است که برای ساختار ژنتیکی منحصربه‌فرد و ویژه بودن سرطان‌های این افراد طراحی شده باشند. این روش تاکنون موفقیت‌هایی نیز در زمینهٔ توصیف زیرمجموعه‌های سرطان‌های مختلف داشته است.

نهایتاً هر فردی می‌تواند در پروندهٔ پزشکی‌اش، فهرستی از بارکدهای ژنتیکی که نشان‌دهندهٔ استعداد این فرد برای ابتلا به بیماری‌های خاص است، داشته باشد. بنابراین کاربرد بالقوهٔ این اطلاعات برای پیش‌گیری و درمان بسیار پراهمیت است.

زیست‌شناسی سیستم‌ها یک راه بسیار مفید و کارآمد برای مطالعهٔ ویژگی‌های مهم در سطح مولکولی است. با یادآوری آنچه از فصل ۱ آموختیم، ویژگی‌های جدید در هر سطح از نظم زیستی، نتیجهٔ نظم زیرساخت‌ها در سطوح پائین‌تر است. هرچه بیشتر در مورد آرایش و برهمکنش بین سیستم‌های ژنتیکی بیاموزیم، درک ما از موجودات زنده عمیق‌تر خواهد شد. در قسمت‌های باقیماندهٔ این فصل خواهیم دید که تاکنون از مطالعات ژنومیک چه آموخته‌ایم.



شکل ۶-۲۱ **یک تراشهٔ ریزآرایهٔ ژنی انسان.** *نقاط کوچک DNA که به‌صورت چهارخانه در این تراشهٔ سیلیکونی قرار گرفته‌اند، تمام ژن‌های ژنوم انسان را نشان می‌دهند. محققان با استفاده از این تراشه می‌توانند الگوهای بیان تمام ژن‌های انسان را به‌صورت هم‌زمان بررسی نمایند.*

پرسش‌های مبحث ۲-۲۱

۱. اینترنت چه نقشی در تحقیقات ژنومیکس و پروتئومیکس کنونی دارد؟

۲. مزیت استفاده از روش بیولوژی سیستم‌ها در مطالعهٔ سرطان نسبت به روش مطالعهٔ ژن‌های مجزا در هر نوبت را توضیح دهید.

۳. **ارتباط دهید** در طرح ENCODE راهبر مشخص شد که بیش از ۹۰ درصد مناطق ژنومی که مطالعه شده‌اند به RNA رونویسی می‌شوند که بسیار بیشتر از مقداری است که برای ژن‌های رمز کنندهٔ پروتئین در نظر گرفته می‌شود. مبحث ۳-۱۸ را بازبینی کرده و نقش‌هایی که این RNAها می‌توانند داشته باشند را پیشنهاد کنید.

۴. **ارتباط دهید** در مبحث ۲-۲۰، در مورد مطالعات ارتباطی در سطح ژنوم مطالبی آموختید. توضیح دهید که این مطالعات چگونه از روش زیست‌شناسی سیستم‌ها استفاده می‌کنند.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۳-۲۱ ژنوم‌ها از نظر اندازه، تعداد و تراکم ژن‌ها با یکدیگر متفاوتند

تا اوایل سال ۲۰۱۰، توالی‌یابی بیش از ۱۲۰۰ ژنوم به پایان رسیده و توالی‌یابی بیش از ۵۵۰۰ ژنوم در دست اجرا بود. در گروهی که به‌طور کامل توالی‌یابی شده بودند، حدود ۱۰۰۰ ژنوم مربوط به باکتری‌ها و ۸۰ ژنوم مربوط به آرکی‌باکتری‌ها بود. در بین ۱۲۴ گونهٔ یوکاریوتی که به‌طور کامل توالی‌یابی شدند، مهره‌داران، بی‌مهرگان، آغازیان، قارچ‌ها و گیاهان قرار داشتند. این توالی‌های ژنومی انباشته‌شده، حاوی اطلاعات بسیار با ارزشی هستند که ما تنها شروع به استخراج آنها کرده‌ایم. از مقایسهٔ ژنوم‌هایی که تاکنون توالی‌یابی شده‌اند چه آموخته‌ایم؟ در این قسمت، ما ویژگی‌های اندازهٔ ژنوم، تعداد ژن‌ها و تراکم ژن‌ها را بررسی می‌کنیم. از آنجایی که این ویژگی‌ها بسیار متنوع‌اند، ما روی صفات کلی تمرکز می‌کنیم، هرچند اغلب استثناهایی وجود دارند.

اندازهٔ ژنوم

از مقایسهٔ سه نوع اصلی موجودات زنده (باکتری‌ها، آرکی باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها) ما متوجه یک تفاوت کلی در اندازهٔ ژنوم پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها می‌شویم (**جدول ۱-۲۱**). با وجود اینکه چند استثنا وجود دارند، بیشتر ژنوم‌های باکتریایی بین ۱ تا ۶ میلیون جفت‌باز (Mb) دارند. برای مثال، ژنوم *E. coli*، ۴/۶ میلیون جفت‌باز دارد. ژنوم آرکی‌باکترها هم اکثراً در محدودهٔ اندازهٔ ژنوم‌های باکتریایی قرار دارد. (به‌یاد داشته باشید که تاکنون تعداد بسیار کمتری از ژنوم‌های آرکی‌باکتری‌ها به‌طور کامل توالی‌یابی

جدول ۱-۲۱ اندازه‌های ژنوم و تعداد تخمینی ژن‌ها

Organism	Haploid Genome Size (Mb)	Number of Genes	Genes per Mb
Bacteria			
Haemophilus influenzae	1.8	1,700	940
Escherichia coli	4.6	4,400	950
Archaea			
Archaeoglobus fulgidus	2.2	2,500	1,130
Methanosarcina barkeri	4.8	3,600	750
Eukaryotes			
Saccharomyces cerevisiae (yeast, a fungus)	12	6,300	525
Caenorhabditis elegans (nematode)	100	20,100	200
Arabidopsis thaliana (mustard family plant)	120	27,000	225
Drosophila melanogaster (fruit fly)	165	13,700	83
Oryza sativa (rice)	430	42,000	98
Zea mays (corn)	2,300	32,000	14
Mus musculus (house mouse)	2,600	22,000	11
Ailuropoda melanoleuca (giant panda)	2,400	21,000	9
Homo sapiens (human)	3,000	<21,000	7
Fritillaria assyriaca (lily family plant)	124,000	ND	ND

*Some values given here are likely to be revised as genome analysis continues. Mb = million base pairs. ND = not determined.

شده‌اند، بنابراین ممکن است این فرضیه تغییر کند.) ژنوم‌های یوکاریوت‌ها بزرگ‌ترند: ژنوم مخمر تک‌سلولی *ساکارومایسز سرویزیه* حدود ۱۲ میلیون جفت‌باز دارد، این درحالی است که بیشتر جانوران و گیاهان که پرسلولی‌اند، ژنوم‌هایی با اندازهٔ حداقل ۱۰۰ میلیون جفت‌باز دارند. در ژنوم مگس سرکه، ۱۶۵ میلیون جفت‌باز وجود دارد درحالی‌که ژنوم انسان اندازه‌ای برابر ۳۲۰۰ Mb دارد یعنی ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ برابر بیشتر از باکتری‌های معمولی.

جدای از این تفاوت کلی بین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها، مقایسهٔ اندازهٔ ژنوم بین یوکاریوت‌های مختلف، یک ارتباط منطقی بین اندازهٔ ژنوم و فنوتیپ جاندار نشان نمی‌دهد. برای مثال، ژنوم *فریتیلاریا آسیریکا*[1]، که یک گیاه گل‌دار از خانوادهٔ زنبق می‌باشد، ۱۲۴ میلیارد جفت‌باز (۱۲۴۰۰۰ Mb) دارد، یعنی حدود ۴۰ برابر اندازهٔ ژنوم انسان. عجیب‌تر اینکه، آمیب تک‌سلولی، *آمیبا دوبیا*[2]، ژنومی با اندازهٔ ۶۷۰۰۰۰ Mb دارد. (این ژنوم هنوز توالی‌یابی نشده است). در یک مقیاس کوچک‌تر، مقایسهٔ دو گونهٔ حشره، مثلاً نشان می‌دهد که ژنوم جیرجیرک (*آنابروس سیمپلکس*[3])، ۱۱ برابر جفت‌باز بیشتری نسبت به ژنوم *دروزوفیلا ملانوگاستر* دارد. آغازیان، حشرات، دوزیستان و گیاهان، دامنهٔ وسیعی در اندازهٔ ژنوم خود دارند ولی دامنهٔ اندازهٔ ژنوم پستانداران و خزندگان، کوچک‌تر است.

تعداد ژن‌ها

تفاوت مشابهی هم بین تعداد ژن‌ها وجود دارد: باکتری‌ها و آرکی‌باکتری‌ها عموماً ژن‌های کم‌تری نسبت به یوکاریوت‌ها دارند. باکتری‌های آزادزی و آرکی‌باکتری‌ها ۱۵۰۰ تا ۷۵۰۰ ژن دارند درحالی‌که تعداد ژن‌های یوکاریوت‌ها، محدوده‌ای برابر ۵۰۰۰ ژن برای قارچ‌های تک‌سلولی و حداقل ۴۰۰۰۰ ژن برای بیشتر یوکاریوت‌های پرسلولی دارد (جدول ۱-۲۱ را ببینید).

در یوکاریوت‌ها، تعداد ژن‌های یک گونه اغلب کم‌تر از آن چیزی است که از روی اندازهٔ ژنوم آن انتظار می‌رود. با توجه به جدول ۱-۲۱ در می‌یابید که ژنوم کرم لوله‌ای *C. elegans* اندازه‌ای برابر ۱۰۰ Mb دارد و دارای ۲۰,۰۰۰ ژن می‌باشد. در مقایسه، ژنوم دروزوفیلا حدود ۲ برابر بزرگ‌تر است (۱۶۵Mb) ولی تنها $\frac{۲}{۳}$ ژن‌های الگانس (۱۳۷۰۰) ژن دارد.

با در نظر گرفتن یک مثال نزدیک‌تر، در می‌یابیم که ژنوم انسان ۳۲۰۰ میلیون جفت‌باز دارد، یعنی بیش از ۱۰ برابر اندازهٔ ژنوم دروزوفیلا یا نماتود الگانس. هنگام شروع پروژهٔ ژنوم انسان، زیست‌شناسان انتظار داشتند با توجه به تعداد پروتئین‌های انسانی شناخته‌شده، ژنوم انسان حدود ۵۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ ژن داشته باشد. در طول پیشرفت پروژه، این تخمین‌ها چندین‌بار کم‌تر شد تا اینکه در سال ۲۰۱۰، قابل اعتمادترین شمارش عددی کم‌تر از ۲۱۰۰۰ را به تعداد ژن‌های انسان نسبت داد. این عدد به نسبت کوچک، همانند تعداد ژن‌های نماتود *C. elegans*، زیست‌شناسان را که وجود ژن‌های بسیار بیشتری را در ژنوم انسان انتظار داشتند، متعجب ساخته است.

چه ویژگی‌های ژنتیکی به انسان (و سایر مهره‌داران) امکان می‌دهد تا با داشتن ژن‌هایی که چندان بیشتر از ژن‌های نماتودها نیستند، به زندگی ادامه دهد؟ یک امر اساسی این است که ژنوم‌های

1- *Fritillaria assyriaca*

2- *Amoeba dubia*

3- *Anabrus simplex*

مهره‌داران، به علت وجود پیرایش متناوب رونوشت‌های RNA، استفادهٔ بیشتری از توالی‌های رمزکنندهٔ خود می‌برند. به یاد آورید که این فرایند، از یک ژن واحد بیش از یک پروتئین کارآمد تولید می‌کند (شکل ۱۳-۱۸ را ببینید). برای مثال، یک ژن تیپیک انسانی حدود ۱۰ اگزون دارد و تخمین زده می‌شود که ۹۳٪ این ژن‌های چنداگزونی، حداقل به دو روش مختلف پیرایش می‌شوند. برخی ژن‌ها به صدها شکل پیرایش‌شده متناوباً بیان می‌شوند، در حالی‌که دیگر ژن‌ها فقط دو شکل پیرایش‌شده برای بیان دارند. هنوز فهرست کردن همه شکل‌های گوناگون ممکن نیست، اما واضح است که تعداد پروتئین‌های رمز شده در ژنوم انسان به مراتب بیشتر از تعداد پیشنهادی ژن‌هاست.

تنوع پلی‌پپتیدی اضافی می‌تواند نتیجهٔ تغییر و تحولات پس از ترجمه مثل شکستگی یا اضافه کردن گروه‌های قندی در انواع مختلف سلولی یا در مراحل مختلف تکوینی باشد. نهایتاً، کشف miRNA و دیگر RNAهای کوچکی که نقش تنظیم‌کننده بازی می‌کنند، متغیر جدیدی را به مخلوط اضافه کرده است (مبحث ۳-۱۸ را ببینید). برخی دانشمندان تصور می‌کنند که این سطح اضافه شده از تنظیم، هنگامی‌که وجود داشته باشند، ممکن است در پیچیدگی وسیع‌تر موجود برای یک تعداد معین ژن دخالت کند.

تراکم ژن و DNA غیررمزکننده

علاوه بر اندازهٔ ژنوم و تعداد ژن‌ها، ما می‌توانیم تراکم ژن‌ها را هم در گونه‌های مختلف مقایسه کنیم. به بیان دیگر، در یک طول مشخص از DNA چند ژن وجود دارد؟ وقتی ژنوم باکتری‌ها، آرکی‌باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها را مقایسه می‌کنیم، متوجه می‌شویم، عموماً یوکاریوت‌ها ژنوم‌های بزرگ‌تر ولی ژن‌های کم‌تری در یک تعداد مشخص از جفت‌بازها دارند. همان‌طور که قبلاً اشاره کردیم، انسان‌ها صدها یا هزاران برابر جفت‌باز بیشتری نسبت به باکتری‌ها در ژنوم خود دارند ولی تنها دارای ۵ تا ۱۵ برابر ژن بیشتر هستند. بنابراین تراکم ژن در انسان‌ها کم‌تر است (جدول ۱-۲۱ را ببینید). حتی یوکاریوت‌های تک‌سلولی، مانند مخمرها هم ژن‌های کم‌تری در هر میلیون جفت‌باز خود، نسبت به باکتری‌ها و آرکی باکتری‌ها دارند. در میان ژنوم‌هایی که تاکنون به‌طور کامل توالی‌یابی شده‌اند، انسان‌ها و پستانداران کم‌ترین تراکم ژن را دارند.

در تمام ژنوم‌های باکتریایی که تاکنون توالی‌یابی شده‌اند، بیشتر DNA از ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین‌ها، RNA ناقل یا RNA ریبوزومی تشکیل شده است. مقدار کمی از DNA باقی‌مانده نیز حاوی توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ غیررونویسی‌شونده مانند راه‌اندازها می‌باشد. توالی نوکلئوتیدی یک ژن رمزکنندهٔ پروتئین باکتریایی، از اول تا آخر بدون هر گونه توالی غیررمزشونده (اینترون) ادامه می‌یابد. برعکس، در ژنوم‌های یوکاریوتی، بیشتر DNA نه پروتئین رمز می‌کند و نه به مولکول‌های RNA رونویسی می‌شود و به‌علاوه، DNA حاوی توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ پیچیده‌تری می‌باشد. در حقیقت، انسان‌ها ۱۰۰۰۰ برابر DNA غیررمزکنندهٔ بیشتری نسبت به باکتری‌ها دارند. مقداری از این DNA در یوکاریوت‌های پرسلولی به‌صورت اینترون‌هایی که در میان ژن‌ها وجود دارند، ظاهر می‌شود. در واقع، اینترون‌ها مسئول بیشتر تفاوت موجود بین طول ژن‌های انسانی (۲۷۰۰۰ جفت‌باز) و ژن‌های باکتریایی (۱۰۰۰ جفت‌باز) می‌باشند.

یوکاریوت‌های پرسلولی، علاوه بر اینترون‌ها، مقدار زیادی DNA غیررمزکننده هم در فواصل ژن‌هایشان دارند. در قسمت بعدی، ما در مورد ساختار و آرایش این مقادیر زیاد DNA موجود در ژنوم انسان توضیح خواهیم داد.

پرسش‌های مبحث ۳-۲۱

۱. با توجه به بهترین تخمین، ژنوم انسان حدود کم‌تر از ۲۱۰۰۰ ژن دارد. ولی ثابت شده است که سلول‌های انسانی بیش از ۲۱۰۰۰ نوع پلی‌پپتید مختلف تولید می‌کنند. چه فرایندهایی این عدم تطابق را توضیح می‌دهند؟

۲. تعداد ژنوم‌های توالی‌یابی‌شده دائماً به‌روز می‌شود. با استفاده از وب‌سایت www. genomesonline.org، تعداد ژنوم‌هایی که به‌طور کامل توالی‌یابی شده‌اند و آنهایی که در دست اقدام هستند را بیابید. (راهنمایی: روی جداول طلایی کلیک کنید، سپس روی «ژنوم‌های کامل منتشر شده» برای اطلاعات بیشتر کلیک نمایید.)

۳. **چه می‌شد اگر؟** چه فرایندهای تکاملی ممکن است مسئول وجود ژنوم‌های کوچک‌تر پروکاریوت‌ها نسبت به یوکاریوت‌ها باشد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۴-۲۱ یوکاریوت‌های پرسلولی، DNA غیررمزگذار و خانواده‌های چندژنی زیادی دارند

ما بیشتر این فصل و در واقع بیشتر این بخش را با تمرکز روی ژن‌هایی که پروتئین‌ها را رمز می‌کنند، سپری کردیم. با این وجود، مناطق رمزکنندهٔ این ژن‌ها و ژن‌هایی که محصولات RNA، مانند rRNA، tRNA و miRNAها را تولید می‌کنند، تنها قسمت کوچکی از ژنوم بیشتر یوکاریوت‌های پرسلولی را تشکیل می‌دهند. بقیهٔ ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها از توالی‌های DNAای تشکیل می‌شود که نه پروتئین‌ها را رمز می‌کنند و نه به RNAهای شناخته‌شده رونویسی می‌شوند. این DNA غیررمزگذار در گذشته تحت عنوان DNA اضافی نامیده می‌شد. ولی شواهد زیادی در حال به‌وجود

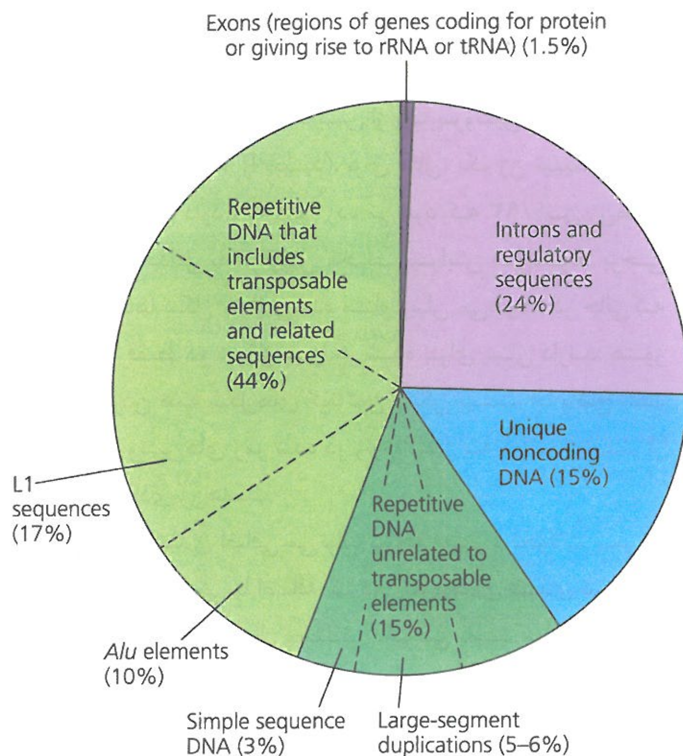
آمدن است که این DNA نقش‌های مهمی در سلول ایفا می‌کند. برای مثال مقایسهٔ ژنوم انسان، موش و رَت[1] نشان داده است که هر سه گونه دارای ۵۰۰ منطقهٔ DNA غیررمزگذار یکسان در ژنوم خود هستند. این مقدار شباهت در توالی‌های غیررمزگذار بیش از آن چیزی است که در توالی‌های رمزکنندهٔ پروتئین این سه گونه دیده می‌شود و این موضوع را مطرح می‌کند که مناطق غیررمزگذار عملکردهای مهمی دارند. در این قسمت، ما با استفاده از ژنوم انسان نشان می‌دهیم که چگونه ژن‌ها و DNA غیررمزگذار، درون ژنوم یوکاریوت‌های پرسلولی سازماندهی می‌شوند. سازماندهی ژنوم‌ها به ما نشان می‌دهد که ژنوم‌ها چگونه تکامل پیدا کرده‌اند و چگونه به تکامل خود ادامه می‌دهند، یعنی همان موضوعی که بعداً بررسی خواهیم کرد.

زمانی‌که توالی‌یابی ژنوم انسان به پایان رسید، مشخص شد که فقط قسمتی جزئی از آن یعنی ۱/۵٪ پروتئین‌ها را رمز می‌کند و یا به rRNAها یا tRNAها رونویسی می‌شود. **شکل ۷-۲۱** نشان می‌دهد که دربارهٔ ۹۸/۵٪ باقی‌ماندهٔ ژنوم چه می‌دانیم. توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ ژن‌ها و اینترون‌ها به ترتیب حدود ۵٪ و ۲۰٪ ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند. بقیهٔ ژنوم که در فواصل ژن‌های عملکردی قرار گرفته‌اند، از قطعات ژنی یا **ژن‌های کاذب**[2] تشکیل شده است. ژن‌های کاذب توالی‌هایی هستند که در گذشته ژن بوده‌اند ولی در اثر جهش‌های تجمع‌یافته در طول زمان، غیرفعال شده‌اند. ژن‌هایی که RNAهای کوچک غیر رمزکننده را تولید می‌کنند، درصد کوچکی از ژنوم هستند که بین ۲۰ درصد اینترون‌ها و ۱۵ درصد DNA غیر رمزکنندهٔ منحصر به فرد توزیع شده‌اند. بیشتر DNA بین ژنی، **DNA تکراری**[3] است و شامل توالی‌هایی می‌باشد که به‌صورت نسخه‌های متعددی درون ژنوم وجود دارند. به‌طور شگفت‌آوری، حدود ۷۵٪ این DNA تکراری (۴۴٪ از کل ژنوم انسان)، از واحدهایی به‌نام قطعات قابل جابه‌جایی و توالی‌های مرتبط به آنها تشکیل شده است.

قطعات قابل جابه‌جایی و توالی‌های مرتبط

پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها هر دو قطعاتی از DNA دارند که می‌تواند از قسمتی از ژنوم به قسمت دیگر حرکت کند. این قطعات به‌عنوان *قطعات ژنتیکی قابل جابه‌جایی*[4] یا به‌طور ساده‌تر **قطعات قابل**

1- Rat
2- Pseudogenes
3- Repetitive DNA
4 - Transposable genetic elements

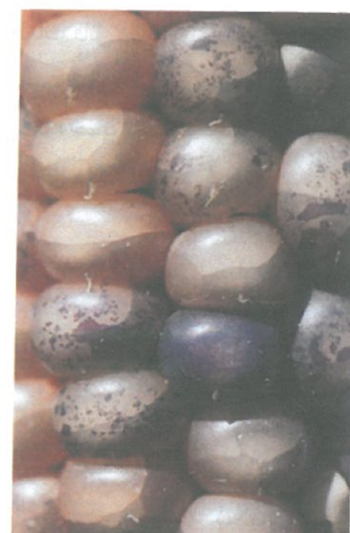


شکل ۷-۲۱ انواع توالی‌های DNA در ژنوم انسان. *توالی‌های ژنی که پروتئین‌ها را رمز می‌کنند یا به rRNA یا tRNA رونویسی می‌شوند فقط ۱/۵٪ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند (بنفش پررنگ در چارت)، درحالی‌که اینترون‌ها و توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ مرتبط با ژن‌ها (بنفش کم‌رنگ) که حدود یک چهارم کل ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند، نه پروتئین رمز می‌کنند و نه به RNAهای شناخته‌شده رونویسی می‌شوند. قسمت زیادی هم، DNA تکراری است (سبز کم‌رنگ و پررنگ). از آنجایی که DNA تکراری بسیار سخت توالی‌یابی می‌شود، تقسیم‌بندی کنونی ممکن است با پیشرفت آنالیز ژنوم تغییر کند. ژن‌هایی که به miRNAها رونویسی می‌شوند (RNAهایی که به‌تازگی کشف شده‌اند)، در میان توالی‌های غیررمزگذار منحصربه‌فرد و درون اینترون‌ها یافت می‌شوند، بنابراین در دو قسمت این چارت وجود دارند.*

جابه‌جایی[5] شناخته می‌شوند. در طول فرایند جابه‌جایی، یک قطعهٔ قابل جابه‌جایی، از قسمتی از DNA سلول به قسمتی دیگر، از طریق نوعی فرایند نوترکیبی حرکت می‌کند. قطعات قابل جابه‌جایی گاهی «ژن‌های پرشی» نامیده می‌شوند ولی این اصطلاح درست نیست زیرا این ژن‌ها هرگز به‌طور کامل از DNA سلول جدا نمی‌شوند. (محل اصلی و محل جدید از طریق خم شدن DNA، کنار هم قرار می‌گیرند.)

اولین شواهد مربوط به وجود قطعات DNA سرگردان، از تحقیقات اصلاح نژادی ژنتیک‌دان آمریکایی، باربارا مک‌کلینتوک[6] روی ذرت هندی در دهه‌های ۱۹۴۰ و ۱۹۵۰ به‌دست آمد (**شکل ۸-۲۱**). همان‌طور که او گیاهان ذرت را در طی

5- Transposable elements
6- Barbara McClintock



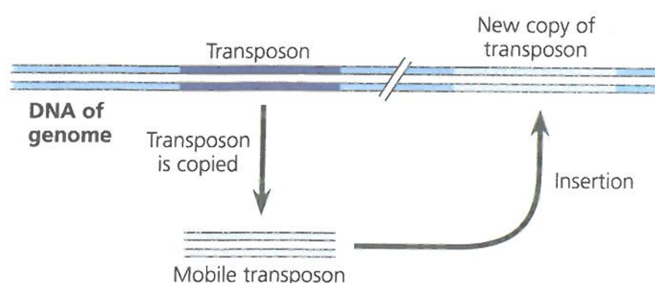

◄ شکل ۸ - ۲۱ تأثیر قطعات قابل جابه‌جایی روی رنگ دانه‌های ذرت. *باربارا مک‌کلینتوک برای اولین‌بار، وجود قطعات ژنتیکی متحرک را بعد از دیدن تنوع در رنگ دانه‌های ذرت، مطرح نمود.*

نسل‌های متمادی پیگیری می‌کرد، متوجه تغییر رنگ‌دانه‌های ذرت شد. این درصورتی امکان داشت که او فرض می‌کرد قطعات ژنتیکی وجود دارند که قادرند از مکان‌های دیگر ژنوم به درون ژن‌های مسئول رنگ‌دانه‌های ذرت حرکت کنند و بنابراین رنگ این دانه‌ها را تغییر دهند. کشف مک‌کلینتوک با انتقادات زیادی روبه‌رو شد و در آن زمان خیلی مورد قبول قرار نگرفت. اعتبار کارهای دقیق و ایده‌های جدید وی چندین سال بعد، یعنی وقتی‌که قطعات قابل جابه‌جایی در باکتری‌ها کشف شد و متخصصان ژنتیک میکروبی پایهٔ مولکولی جابه‌جایی را آموختند، مشخص شد. او جایزهٔ نوبل را در سال ۱۹۸۳ در سن ۸۱ سالگی برای تحقیقاتش دریافت کرد.

حرکت ترانسپوزون‌ها و رترو ترانسپوزون‌ها

قطعات قابل جابه‌جایی یوکاریوت‌ها دو نوع‌اند. نوع اول **ترانس پوزون‌ها**[1] هستند که به‌وسیلهٔ یک واسطهٔ DNA در طول ژنوم حرکت می‌کنند. ترانسپوزون‌ها می‌توانند یا از طریق یک مکانیسم «برش و چسباندن» حرکت کنند که قطعهٔ مورد نظر را از محل اصلی جدا می‌کند یا اینکه از طریق مکانیسم «کپی کردن و چسباندن» این کار را انجام دهند. این مکانیسم یک کپی از قطعه را در محل اصلی نگه می‌دارد (**شکل ۹-۲۱**). هر دو مکانیسم به آنزیمی به نام ترانسپوزاز (Transposase) نیاز دارند که معمولاً به‌وسیله ترانسپوزون رمز گذاری می‌شود.

1- Transposons



◄ شکل ۹ - ۲۱ حرکت ترانسپوزون. *حرکت ترانس‌پوزون‌ها با مکانیسم بریدن و چسباندن یا کپی و چسباندن (که در اینجا نشان داده شده) به یک واسطهٔ DNA دورشته‌ای که به درون ژنوم وارد می‌شود، نیاز دارد.*

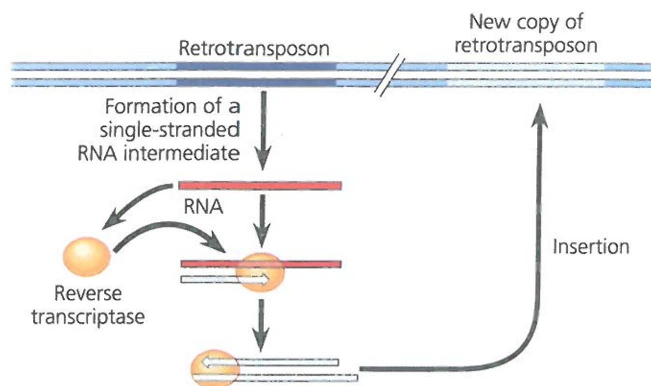
؟ اگر شکل، مکانیسم بریدن و چسباندن را نشان می‌داد، شکل چه تغییری می‌کرد؟

بیشتر قطعات قابل جابه‌جایی در ژنوم یوکاریوت‌ها از نوع دوم یعنی **رترو ترانسپوزون**[2] هستند. این قطعات از طریق یک واسطهٔ RNA که یک رونوشت از روی DNAی رترو ترانسپوزون می‌باشد، حرکت می‌کنند. رترو ترانس پوزون‌ها همیشه یک کپی در محل اصلی به جای می‌گذارند زیرا آنها در ابتدا به یک واسطهٔ RNA رونویسی می‌شوند (**شکل ۱۰-۲۱**). برای وارد شدن به محل جدید، واسطهٔ RNA ابتدا به‌وسیلهٔ ترانس‌کریپتاز معکوس دوباره به DNA تبدیل می‌شود. این آنزیم هم توسط خود رتروترانس‌پوزون رمز می‌گردد. بنابراین ترانس‌کریپتاز معکوس می‌تواند در سلول‌هایی که با رتروویروس‌ها آلوده نیستند نیز وجود داشته باشد. (در حقیقت، رتروویروس‌ها که در فصل ۱۹ در مورد آنها صحبت کردیم ممکن است از رتروترانسپوزون‌ها تکامل پیدا کرده باشند.) یک آنزیم سلولی، ورود DNA حاصل را در محل جدید کاتالیز می‌کند.

توالی‌های مرتبط با قطعات قابل جابه‌جایی

کپی‌های متعددی از قطعات قابل جابه‌جایی و توالی‌های مرتبط به آنها در ژنوم یوکاریوتی پخش شده‌اند. یک واحد مجزا معمولاً صدها تا هزاران جفت‌باز طول دارد و کپی‌های پراکندهٔ آن مشابه‌اند ولی کاملاً با یکدیگر یکسان نیستند. بعضی از این قطعات، قطعات قابل جابه‌جایی هستند که می‌توانند حرکت کنند؛ آنزیم‌هایی که برای حرکت آنها مورد نیاز است می‌تواند توسط هر قطعهٔ قابل جابه‌جایی یا حتی قطعهٔ قابل جابه‌جایی که خود درحال حرکت است رمز شود. بقیهٔ توالی‌های مرتبط حدود ٪۵۰-۲۵ از ژنوم بیشتر پستانداران (شکل ۷-۲۱ را ببینید) و حتی مقادیر بیشتری از ژنوم دوزیستان و بسیاری از گیاهان را تشکیل می‌دهند. در واقع، اندازهٔ

2- Retrotransposons



◀ شکل ۱۰-۲۱ **حرکت رتروترانسپوزون‌ها.** *حرکت با شکل‌گیری یک میانجی RNA تک‌رشته‌ای آغاز می‌شود. مراحل بعدی لزوماً با همان بخش از چرخهٔ همانندسازی رتروویروس یکسان است (شکل ۸-۱۹ را ببینید).*

بسیار بزرگ ژنوم برخی گیاهان نه به‌خاطر ژن‌های اضافی بلکه عناصر ترانسپوزونی اضافی است. مثلاً، توالی‌هایی مثل اینها حدود ۸۵ درصد از ژنوم ذرت را تشکیل می‌دهد.

در انسان‌ها و پریمات‌های دیگر، نسبت بزرگی از DNA مرتبط با قطعات قابل جابه‌جایی، از مجموعه‌ای از توالی‌های مشابه به‌نام *قطعات آلو*[1] تشکیل می‌شود. این توالی‌ها به تنهایی حدود ۱۰٪ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند. قطعات آلو حدود ۳۰۰ نوکلئوتید طول دارند و بسیار کوتاه‌تر از بیشتر قطعات قابل جابه‌جایی فعال هستند. این قطعات هیچ پروتئینی را رمز نمی‌کنند. ولی بسیاری از آنها به RNA رونویسی می‌شوند. عملکرد این RNAها هنوز شناخته نشده است.

حتی درصد بزرگ‌تری از ژنوم انسان (۱۷٪)، از نوعی رتروترانسپوزون به‌نام LINE-1 یا L1 تشکیل شده است. این توالی‌ها بسیار بلندتر از قطعات آلو هستند، و حدود ۶۵۰۰ جفت‌باز دارند. به‌علاوه، این توالی‌ها سرعت جابه‌جایی کمی دارند. چه چیزی مسئول این سرعت جابه‌جایی کم است؟ تحقیقات جدید وجود توالی‌هایی در L1 را نشان داده است که از فعالیت RNA پلی‌مراز جلوگیری می‌کنند، امری که برای جابه‌جایی ضروری است. یک آنالیز ژنومی دیگر، وجود توالی‌های L1 را درون ۸۰٪ از اینترون‌های ژن‌های انسان نشان داد که مطرح‌کنندهٔ این موضوع است که L1 ممکن است در تنظیم بیان ژن نقش داشته باشد. محققان دیگر پیشنهاد داده‌اند که رتروترانس‌پوزون‌های L1 ممکن است اثراتی روی اختصاصی شدن بیان ژن در نورون‌های درحال تکوین داشته باشند و به تنوع زیادی که در انواع سلول‌های نورونی وجود دارد، کمک می‌کنند (فصل ۴۸ را ببینید).

1- *Alu* elements

با وجود اینکه بسیاری از قطعات قابل جابه‌جایی پروتئین‌هایی را رمز می‌کنند، این پروتئین‌ها فعالیت‌های طبیعی سلولی را انجام نمی‌دهند. بنابراین قطعات قابل جابه‌جایی اغلب در دستهٔ DNA غیررمزگذار، همراه توالی‌های تکراری دیگر قرار می‌گیرند.

سایر DNAهای تکراری، شامل DNA با توالی ساده

DNA تکراری که مرتبط با قطعات قابل جابه‌جایی نیست ممکن است از اشتباهاتی که در طول همانندسازی یا نوترکیبی DNA صورت می‌پذیرد، منشأ بگیرد. این DNA ٪۱۵ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهد (شکل ۷-۲۱ را ببینید). حدود یک سوم این DNA (٪۵ از ژنوم انسان) از تکرار قطعات بلند DNA تشکیل می‌شود و هر واحد آن طولی بین ۱۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰۰ جفت‌باز دارد. به‌نظر می‌رسد که این قطعات بلند از یک مکان کروموزومی به محل دیگری روی همان کروموزوم یا یک کروموزوم دیگر کپی شده‌اند.

برخلاف کپی‌های پراکندهٔ توالی‌های بلند، **DNA با توالی ساده**[2] حاوی چندین کپی از توالی‌های کوتاه تکرارشده است. مثال زیر یک نمونه از این توالی‌ها را نشان می‌دهد (فقط یک رشته DNA نمایش داده شده است):

... GTTACGTTACGTTACGTTACGTTAC ...

در این مثال، واحد تکرارشونده (GTTAC) از پنج نوکلئوتید تشکیل شده است. واحدهای تکرارشونده می‌توانند ۵۰۰ نوکلئوتید داشته باشند ولی اغلب همان‌طور که در این مثال دیده می‌شود کم‌تر از ۱۵ نوکلئوتید دارند. زمانی‌که واحد تکرارشونده ۲ تا ۵ نوکلئوتید داشته باشد مجموعهٔ تکرارها، **تکرارهای متوالی کوتاه**[3] یا **STR** نامیده می‌شوند. ما دربارهٔ کاربرد آنالیز STR در تهیهٔ پروفایل‌های ژنتیکی در فصل ۲۰ بحث کردیم. تعداد کپی‌های واحد تکراری می‌تواند از جایی به جای دیگر در یک ژنوم تغییر کند. ممکن است در یک محل چند صد هزار تکرار از واحد GTTAC وجود داشته باشد درحالی‌که در یک محل دیگر فقط نصف این مقدار تکرار دیده شود. به‌علاوه، تعداد تکرارها از فردی به فرد دیگر هم متفاوت است. این تفاوت به‌صورت تنوع پروفایل‌های ژنتیکی در آنالیز STR تظاهر می‌کند. DNAهای با توالی ساده، روی هم ٪۳ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند.

بیشتر DNA با توالی سادهٔ ژنوم، در تلومرها و سانترومرهای کروموزومی قرار گرفته است. این مسأله مطرح کنندهٔ این است که این DNA یک نقش ساختمانی برای کروموزوم‌ها ایفا می‌کند.

2- Simple sequence DNA
3- Short tandem repeats

DNA موجود در سانترومرها برای جدا شدن کروماتیدها در زمان تقسیم سلولی ضروری است (فصل ۱۲ را ببینید). DNA سانترومری به همراه بقیهٔ DNA با توالی ساده که در جاهای دیگر قرار گرفته‌اند، همچنین ممکن است در هستهٔ اینترفازی به سازماندهی کروماتین کمک کنند. DNA با توالی ساده‌ای که در تلومرها، یعنی در سر کروموزوم‌ها قرار گرفته است، از ازدست رفتن ژن‌ها هنگام کوتاه شدن DNA در هر دور همانندسازی جلوگیری می‌کند (فصل ۱۶ را ببینید). DNA تلومری همچنین به پروتئین‌هایی متصل می‌شود که انتهای کروموزوم‌ها را از تجزیه شدن یا اتصال به دیگر کروموزوم‌ها حفظ می‌کنند.

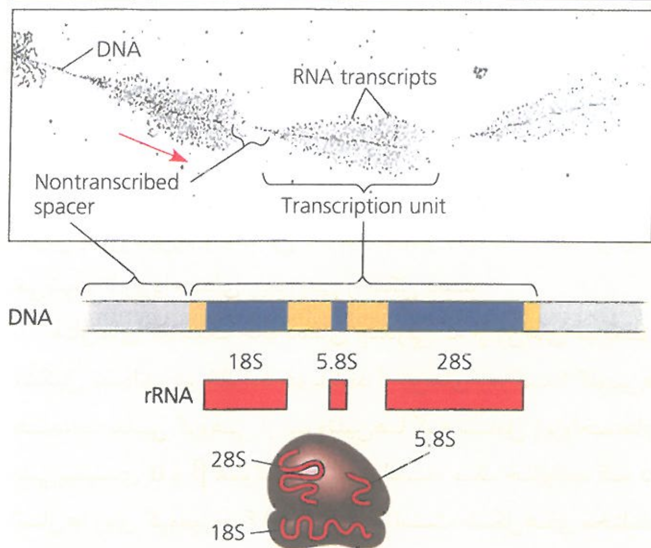
ژن‌ها و خانواده‌های چندژنی

ما بحث خود را در مورد انواع مختلف توالی‌های DNA در ژنوم‌های یوکاریوتی با نگاهی دقیق‌تر به ژن‌ها به پایان می‌بریم. به یاد آورید که توالی‌های DNA که پروتئین‌ها را رمز می‌کنند، یا به tRNA یا rRNA رونویسی می‌شوند، فقط ٪۱/۵ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند (شکل ۷-۲۱ را ببینید). اگر اینترون‌ها و توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ مرتبط با ژن‌ها را هم در نظر بگیریم، کل DNA مرتبط با ژن، چه رمزکننده و چه غیررمزکننده، ٪۲۵ از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهد. به بیان دیگر، فقط ٪۶ (٪۱/۵ از ٪۲۵) از طول یک ژن معمولی به‌صورت محصول نهایی تظاهر می‌کند.

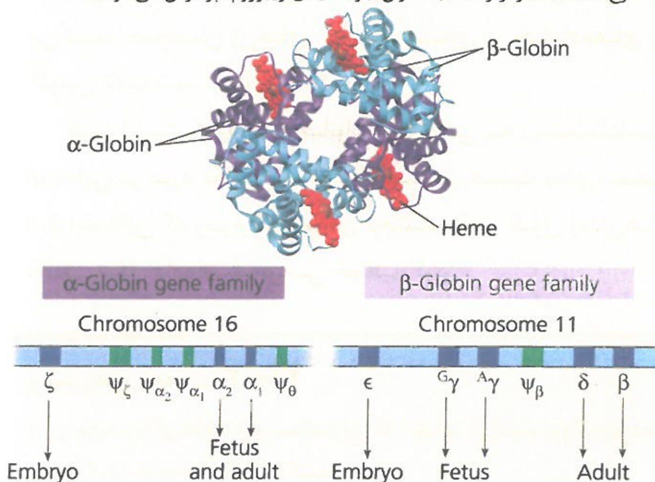
مانند ژن‌های باکتریایی، بسیاری از ژن‌های یوکاریوتی نیز به‌صورت توالی‌های خاص و تنها در یک کپی در هر مجموعهٔ هاپلوئیدی از کروموزوم‌ها وجود دارند. ولی در ژنوم انسان و ژنوم بسیاری از جانوران و گیاهان دیگر، چنین ژن‌های خاصی کم‌تر از نصف کل DNAی رونویسی شوند را تشکیل می‌دهند. بقیه به‌صورت **خانواده‌های چندژنی**[1] تظاهر می‌کنند که مجموعه‌هایی از دو یا تعداد بیشتری ژن‌های یکسان یا بسیار شبیه‌هم هستند.

در خانواده‌های چندژنی که از توالی‌های DNA ***یکسان*** تشکیل می‌شوند، توالی‌ها معمولاً به‌صورت متوالی دسته‌بندی می‌گردند و محصول نهایی این ژن‌ها RNAها هستند. (البته ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین‌های هیستونی استثنا هستند)، یک مثال از این ژن‌ها، خانواده‌ای از توالی‌های DNA یکسان است که ژن‌های سه تا از بزرگ‌ترین مولکول‌های rRNA را در خود جای می‌دهد (**شکل ۱۱a-۲۱**). این مولکول‌های rRNA، از یک واحد رونویسی منفرد رونویسی می‌شوند. این واحد رونویسی صدها تا هزارها بار در یک یا چندین منطقه از ژنوم یک یوکاریوت پرسلولی تکرار می‌شود.

1- Multigene families



(a) بخشی از خانوادهٔ ژن‌های RNA ریبوزومی. ریزنگار TEM که در فوق دیده می‌شود، سه تا از صدها نسخه واحدهای رونویسی rRNA را در ژنوم سوسمار نشان می‌دهد. هر بخش «پر مانند» به یک واحد منفرد مربوط می‌شود که در حال رونویسی شدن توسط صد مولکول RNA پلیمراز است (نقاط سیاه رنگ در طول DNA) که در حال حرکت از سمت چپ به راست (فلش قرمز رنگ) هستند. رونوشت‌های در حال رشد RNA از DNA بیرون زده‌اند. در نمودار مربوط به یک واحد رونویسی که در زیر TEM دیده می‌شود، ژن‌های سه نوع rRNA (آبی‌رنگ) با مناطقی که رونویسی شده اما بعداً حذف می‌شوند (زرد رنگ) در نزدیکی همدیگر قرار دارند. یک رونوشت منفرد برای تولید یکی از هر کدام از سه نوع rRNA (قرمز رنگ)، به عنوان جزء کلیدی ریبوزوم، پردازش می‌شود.



(b) خانواده‌های ژنی آلفا و بتا-گلوبین انسانی. هموگلوبین افراد بالغ از دو زیرواحد پلی‌پپتیدی آلفا-گلوبین و دو زیرواحد پلی‌پپتیدی بتا-گلوبین، به‌طوری‌که در مدل مولکولی نشان داده شده، تشکیل شده است. ژن‌های رمز کنندهٔ (آبی تیره) آلفا و بتا-گلوبین، همان‌گونه که در اینجا نمایش داده شده‌اند، متعلق به دو خانوادهٔ ژنی هستند. DNA غیر رمزکنندهٔ جدا کنندهٔ ژن‌های عملکردی در هر خانواده شامل ژن‌های کاذب (Ψ، سبزرنگ) است که نسخه‌هایی از ژن‌های عملکردی هستند که پروتئین‌های عملکردی تولید نمی‌کنند. ژن‌ها و ژن‌های کاذب به‌وسیله حروف یونانی نامگذاری شده‌اند. برخی از ژن‌ها فقط در رویان یا جنین بیان می‌شوند.

▲ **شکل ۱۱-۲۱ خانواده‌های ژنی.**

؟ **در قسمت a اگر جهت رونویسی با فلش قرمز مشخص نشده بود، چگونه آن‌را تعیین می‌کردید؟**

وجود کپی‌های متعدد از این واحد رونویسی rRNA به سلول‌ها کمک می‌کند تا به‌سرعت میلیون‌ها ریبوزومی را که برای پروتئین‌سازی فعال مورد نیاز است، تولید کنند. رونوشت اولیه تجزیه می‌شود تا سه مولکول rRNA حاصل شود. این سه rRNA سپس با پروتئین‌ها و یک نوع rRNA دیگر (5S rRNA) ترکیب می‌شوند تا زیرواحدهای ریبوزومی را شکل دهند.

مثال‌های کلاسیک خانواده‌های چندژنی که از ژن‌های *غیریکسان* تشکیل شده‌اند، دو خانوادهٔ خویشاوند از ژن‌های رمزکنندهٔ گلوبین‌ها هستند، یعنی گروهی از پروتئین‌ها که شامل زیرواحدهای پلی‌پپتیدی α و β هموگلوبین می‌باشند. یک خانواده، که در انسان‌ها روی کروموزوم ۱۶ قرار گرفته است، شکل‌های مختلف α- گلوبین را رمز می‌کند. دیگری که روی کروموزوم ۱۱ می‌باشد اشکال β- گلوبین را رمز می‌نماید (**شکل 11b-۲۱**). اشکال مختلف هر زیرواحد گلوبین در زمان‌های متفاوت در طول نمو جاندار بیان می‌شوند و هموگلوبینی ایجاد می‌کنند که به‌طور کارآمدی در محیط‌های مختلفی که جانورِ در حال تکوین در آن قرار می‌گیرد، عمل کند. برای مثال در انسان‌ها، اشکال رویانی و جنینی هموگلوبین، تمایل اتصال بیشتری نسبت به اشکال بالغ برای اکسیژن دارند و انتقال کافی اکسیژن از مادر به جنین را تضمین می‌کنند. همچنین ژن‌های کاذب متعددی در خانواده‌های ژن گلوبین یافت شده است.

طرز آرایش ژن‌ها در خانواده‌های ژنی به زیست‌شناسان ایده‌هایی در مورد تکامل ژنوم‌ها داده است. در قسمت بعدی، بعضی از فرایندهایی که ژنوم گونه‌های مختلف را در طول زمان‌های تکاملی شکل داده است، بررسی خواهیم کرد.

پرسش‌های مبحث ۴-۲۱

۱. در مورد ویژگی‌های ژنوم پستانداران که آنها را از ژنوم پروکاریوت‌ها بزرگ‌تر کرده است، بحث کنید.

۲. کدام‌یک از سه مکانیسم توصیف شده در شکل‌های ۹-۲۱ و ۱۰-۲۱ نسخه‌ای تولید می‌کنند که علاوه بر مکان جدید، در مکان اولیه و اصلی خود نیز باقی بماند؟

۳. در مورد تفاوت‌های سازماندهی خانوادهٔ ژنی rRNA و خانوادهٔ ژنی گلوبین بحث کنید. برای هر یک توضیح دهید که چگونه وجود این خانواده‌های ژنی برای جاندار سودمند خواهد بود.

۴. **ارتباط دهید** هر کدام از قطعات DNA در بالای شکل ۸-۱۸ را به یک ناحیه از نمودار دایره‌ای شکل ۷-۲۱ اختصاص بدهید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۵-۲۱ مضاعف‌شدگی، بازآرایی و جهش DNA به تکامل ژنوم کمک می‌کنند

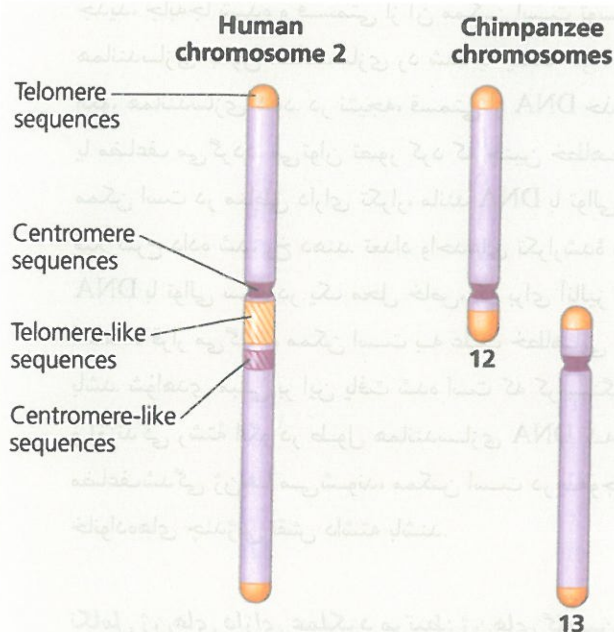
اساس تغییر در سطح ژنومی، جهش است، که بیشترین نقش را در تکامل ژنوم ایفا می‌کند. به نظر می‌رسد که ابتدایی‌ترین شکل‌های حیات، حداقل تعداد ژن‌ها را داشتند، یعنی تنها ژن‌هایی که برای زنده ماندن و تولیدمثل ضروری بودند. اگر این مسأله واقعاً وجود داشته باشد، یک جنبهٔ تکامل باید بیشتر شدن اندازهٔ ژنوم و به‌وجود آمدن مادهٔ ژنتیک اضافی باشد که مادهٔ خام را برای تنوع ژنی فراهم کند. در این بخش، در ابتدا توضیح خواهیم داد که چگونه کپی‌های اضافی از همه یا بخشی از ژنوم می‌توانند به‌وجود آیند. سپس در ادامه، فرایندهای بعدی که منجر به تکامل پروتئین‌هایی (یا محصولات RNA) با عملکرد متفاوت می‌شوند را بررسی خواهیم کرد.

همانندسازی کل مجموعهٔ کروموزوم‌ها

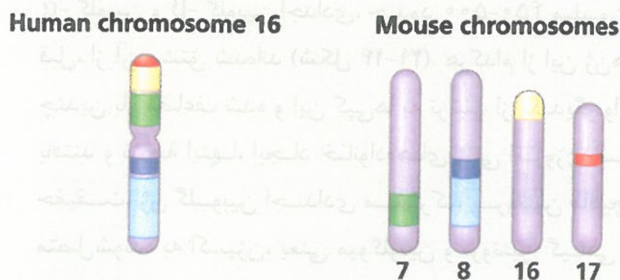
یک اتفاق در طول میوز می‌تواند منجر به ایجاد یک یا چند مجموعهٔ کروموزومی اضافی در سلول شود، وضعیتی که تحت عنوان پلی‌پلوئیدی شناخته می‌شود. با وجود اینکه چنین تصادف‌هایی اکثراً کشنده خواهند بود، در موارد نادری تکامل ژن‌ها را تسهیل کرده‌اند. در یک جاندار پلی‌پلوئید، یک مجموعه از ژن‌ها می‌تواند عملکردهای ضروری جاندار را تأمین کند. ژن‌های موجود در یک یا چند مجموعهٔ اضافی، با تجمع جهش‌ها می‌توانند از هم متفاوت شوند. این تفاوت‌ها درصورتی‌که جاندار حامل آنها زنده بماند و تولیدمثل کند، باقی خواهند ماند. به این صورت، ممکن است ژن‌هایی با عملکرد جدید ظهور پیدا کنند. تا زمانی‌که یک نسخه از یک ژن ضروری بیان شود، تغییر نسخه دیگر آن می‌تواند پروتئینی با اثر جدید تولید نماید و از این طریق فنوتیپ جاندار تغییر کند. نتیجهٔ تجمع این جهش‌ها ممکن است منشعب شدن یک گونهٔ جدید باشد، همان‌طور که اغلب در گیاهان اتفاق می‌افتد (فصل ۲۴ را ببینید). جانوران پلی‌پلوئید هم وجود دارند ولی بسیار نادرند.

تغییر ساختار کروموزوم

دانشمندان از مدت‌ها پیش می‌دانند که زمانی در ۶ میلیون سال پیش، یعنی وقتی اجداد انسان‌ها و شامپانزه‌ها به‌صورت دو گونه از هم جدا شدند، ترکیب دو تا از کروموزوم‌های اجدادی در ردهٔ انسانی منجر به ایجاد عدد هاپلوئید متفاوتی در انسان‌ها (n=۲۳) و شامپانزه‌ها (n=۲۴) شد. الگوی نواربندی در کروموزوم‌های رنگ شده اذعان دارد که نسخه‌های اجدادیِ کروموزوم‌های ۱۲ و ۱۳



(a) کروموزوم‌های انسان و شامپانزه. جایگاه توالی‌های شبه تلومر و شبه سانترومر در کروموزوم شماره ۲ انسان (چپ) با آنچه در تلومرهای کروموزوم‌های ۱۲ و ۱۳ و سانترومر کروموزوم ۱۳ شامپانزه (راست) وجود دارد، مطابقت می‌کند. این واقعیت بیانگر این موضوع است که کروموزوم‌های ۱۲ و ۱۳ در اجداد انسان به صورت انتها به انتها به‌هم چسبیده و کروموزوم ۲ انسان امروزی را ایجاد کرده‌اند. سانترومر کروموزوم ۱۲ اجدادی در کروموزوم ۲ انسانی به صورت عملکردی و کارا باقی‌مانده است، در حالی‌که سانترومر دیگر که از کروموزوم ۱۳ آمده است اینچنین نیست (کروموزوم‌های ۱۲ و ۱۳ شامپانزه به ترتیب به صورت 2a و 2b دوباره نامگذاری شده‌اند)



(b) کروموزوم‌های انسان و موش. توالی‌های بسیار مشابه DNA مربوط به بلوک‌های بزرگ کروموزوم ۱۶ انسان (مناطق رنگی این نمودار) روی کروموزوم‌های ۷، ۸، ۱۶ و ۱۷ موش نیز یافت شده‌اند. براین اساس، توالی DNA در هر بلوک، از زمانی‌که از یک جد مشترک مشتق شده‌اند، در رده‌های انسان و موش با همدیگر باقی مانده‌اند.

شکل ۱۲-۲۱ بلوک‌های مشابه از توالی‌ها روی کروموزوم‌های پستانداران.

شامپانزهٔ امروزی به‌صورت انتها به انتها به‌هم چسبیده و کروموزوم ۲ را در اجداد ردهٔ انسان ایجاد کرده‌اند. با انفجار اطلاعات در مورد توالی‌های ژنومی، ما امروزه می‌توانیم ساختار کروموزومی بسیاری از گونه‌های مختلف را بسیار دقیق‌تر با هم مقایسه کنیم. این اطلاعات به ما امکان می‌دهند تا فرایندهای تکاملی که کروموزوم‌ها را شکل داده‌اند و احتمالاً منجر به گونه‌زایی شده‌اند، استنباط کنیم. توالی‌یابی و آنالیز کروموزوم ۲ انسان در سال ۲۰۰۵ شاهد و مدرک بسیار قدرتمندی برای الگویی است که توصیف کرده‌ایم (**شکل ۱۲a-۲۱**).

در یک مطالعهٔ دیگر، محققان توالی DNA هر کروموزوم انسانی را با تمام توالی ژنومی موش مقایسه کردند. **شکل ۱۲b-۲۱** نتایج این مقایسه را برای کروموزوم ۱۶ انسانی نشان می‌دهد. قطعات ژنی بزرگی از این کروموزوم در چهار کروموزوم موش یافت می‌شود که نشان می‌دهد ژن‌های هر قطعه در طول تکامل دودمان‌های موش و انسان در کنار هم بودند.

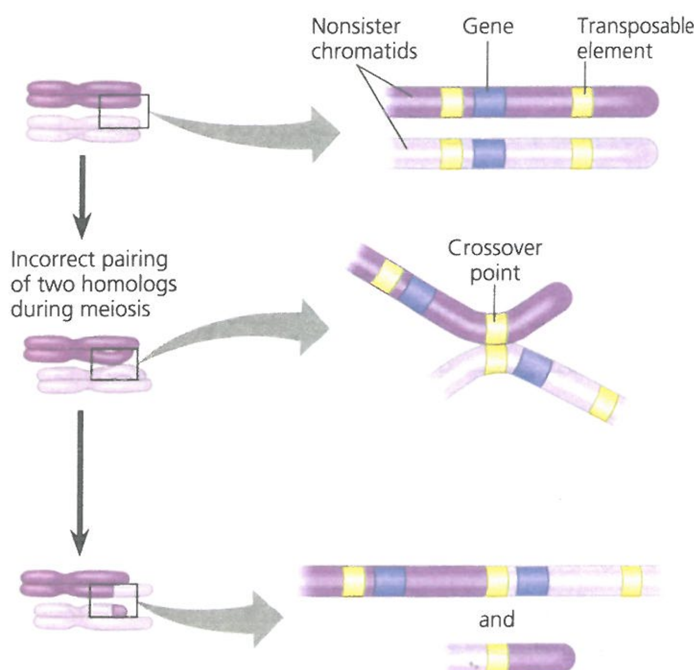
با انجام یک آنالیز مقایسه‌ای مشابه بین کروموزوم‌های انسانی و شش گونهٔ پستاندار دیگر، محققان توانستند تاریخچهٔ تکاملیِ بازآرایی کروموزومی را در این هشت گونه بازسازی کنند. آنها چندین مضاعف‌شدگی و واژگونی در قطعات بزرگی از کروموزوم‌ها یافتند که نتیجهٔ اشتباهات در طول نوترکیبی میوزی بودند. در طی این اشتباهات، DNA دچار شکستگی شده و قطعات به‌طور نادرست دوباره به‌هم متصل می‌شوند. به نظر می‌رسد سرعت این رخدادها حدود ۱۰۰ میلیون سال قبل بیشتر شده باشد، یعنی زمانی‌که دایناسورهای بزرگ منقرض شدند و گونه‌های پستاندار به‌سرعت افزایش یافتند. این همزمانی واضح، جالب توجه است زیرا به نظر می‌رسد که بازآرایی کروموزومی به تشکیل گونه‌های جدید کمک کرده است. با وجود اینکه امکان دارد دو موجود با آرایش کروموزومی متفاوت جفت‌گیری کنند و فرزند تولید نمایند، فرزند حاصل دو مجموعهٔ کروموزومی غیرمساوی خواهد داشت که باعث می‌شود میوز ناکارآمد یا حتی غیرممکن باشد. بنابراین بازآرایی کروموزومی ایجاد دو جمعیت می‌کند که نمی‌توانند به‌طور موفقیت‌آمیز با یکدیگر زادآوری کنند و این مسأله یک مرحله از راهی است که از آنها دو گونهٔ مجزا می‌سازد. (در مورد این مسأله در فصل ۲۴ بیشتر خواهید آموخت.)

به‌طور غیرمنتظره‌ای، همین مطالعه الگویی در ارتباط با علوم پزشکی را آشکار ساخت. آنالیز نقاط شکست کروموزومی مرتبط با بازآرایی نشان داد که این نقاط به‌طور تصادفی توزیع نشده بودند، بلکه مناطق خاصی بودند که بارها و بارها مورد استفاده قرار گرفته بودند. مکان تعدادی از این «نقاط داغ» بازآرایی، با مکان بازآرایی‌های کروموزومی موجود در ژنوم انسان که با بیماری‌های مادرزادی در ارتباط بودند، مطابقت داشت. البته محققان در حال جستجوی مناطق دیگری هستند که ممکن است با بیماری‌هایی که هنوز شناخته نشده‌اند، ارتباط داشته باشند.

مضاعف‌شدگی و واگرایی مناطق به اندازۀ ژن[1] در DNA

خطاهای میوزی همچنین می‌توانند منجر به مضاعف‌شدن مناطق کروموزومی شوند که کوچک‌تر از آن چیزی هستند که تاکنون بحث کردیم. این مناطق شامل قطعاتی با طول یک ژن منفرد هستند. برای مثال، کراسینگ اور نابرابر در طول پروفاز I میوز می‌تواند یک کروموزوم با حذف و یک کروموزوم با مضاعف‌شدگی در یک ژن خاص ایجاد کند. همان‌طور که در **شکل ۱۳-۲۱** نشان داده شده است، قطعات قابل جابه‌جایی در ژنوم ممکن است مناطقی به‌وجود آورند که در آنها کروماتیدهای غیرخواهری کراس‌اور انجام دهند، حتی در صورتی‌که توالی‌های همولوگ‌شان به‌درستی در یک راستا قرار نگرفته باشند.

به‌علاوه، لغزندگی[2] هم ممکن است در طول همانندسازی DNA رخ دهد، به‌طوری‌که رشتۀ الگو نسبت به رشتۀ مکمل جدید، جابه‌جا شده و قسمتی از آن ممکن است توسط ماشین همانندسازی، بدون همانندسازی رد شده یا اینکه دوبار به‌عنوان الگو، همانندسازی شود. در نتیجه، قسمتی از DNA حذف می‌شود یا مضاعف می‌گردد. می‌توان تصور کرد که چنین خطاهایی چگونه ممکن است در مناطق دارای تکرار، مانند DNA با توالی ساده که قبلاً شرح داده شد، رخ دهند. تعداد واحدهای تکرارشدۀ متفاوت در DNA با توالی ساده در یک محل خاص، که برای آنالیز STR مورد استفاده قرار می‌گیرد، ممکن است به علت خطاهایی مانند این باشد. شواهدی مبنی بر این یافت شده است که کراسینگ اور نابرابر و لغزندگی رشتۀ الگو در طول همانندسازی DNA که منجر به مضاعف‌شدگی ژن‌ها می‌شوند، ممکن است در به‌وجود آمدن خانواده‌های چندژنی نقش داشته باشند.



شکل ۱۳-۲۱ مضاعف‌شدن ژن به‌علت کراسینگ اور نابرابر. یکی از مکانیسم‌هایی که در آن ژن (یا هر قطعۀ دیگر DNA) ممکن است مضاعف شود، نوترکیبی در طول میوز، بین کپی‌های قطعات قابل جابه‌جایی موجود در دوطرف ژن است. چنین نوترکیبی بین کروماتیدهای غیرخواهریِ کروموزوم‌های همتا، یک کروماتید با دو کپی از ژن و یک کروماتید بدون کپی از ژن ایجاد می‌کند.

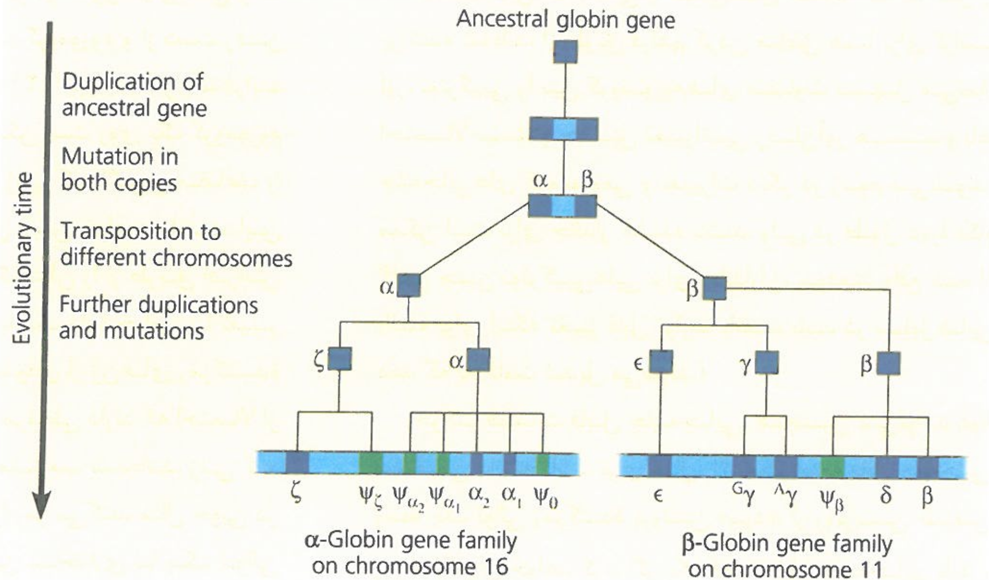
ارتباط دهید چگونگی رخداد کراسینگ‌اور را در شکل ۱۱-۱۳ بررسی کنید. در بخش میانی شکل فوق، خطی از میان اجزایی که باعث ایجاد کروماتید بالایی در بخش پایینی شکل می‌شوند رسم کنید. از رنگ‌های متفاوتی برای انجام همین‌کار روی سایر کروماتیدها استفاده کنید.

تکامل ژن‌های دارای عملکرد مرتبط: ژن‌های گلوبین انسانی

مضاعف‌شدگی ژن‌ها ممکن است باعث تکامل ژن‌های دارای عملکرد مشابه، مانند خانواده‌های ژنی α- گلوبین و β- گلوبین شود (شکل ۱۱b-۲۱ را ببینید). یک مقایسه بین توالی‌های ژنی موجود در یک خانوادۀ چند ژنی، ممکن است ترتیب ظهور ژن‌ها را نشان دهد. این روش دربارۀ تاریخچۀ تکاملی ژن‌های گلوبین نشان می‌دهد که همگی آنها از یک ژن گلوبین اجدادی مشترک منشأ گرفته‌اند. این ژن اجدادی دچار مضاعف‌شدگی شده و سپس ژن‌های α- گلوبین و β- گلوبین اجدادی، حدود ۵۰۰-۴۵۰ میلیون سال قبل، از آن مشتق شده‌اند (**شکل ۱۴-۲۱**). هرکدام از این ژن‌ها بعداً چندین بار مضاعف شده و این کپی‌ها به ترتیب از یکدیگر واگرایی یافتند و نتیجۀ اینها، ایجاد خانواده‌های ژنی امروزی است. در حقیقت، ژن گلوبین اجدادی مشترک، پروتئین ماهیچه‌ای متصل‌شونده به اکسیژن، یعنی میوگلوبین و پروتئین گیاهی یعنی لگ‌هموگلوبین را هم ایجاد کرده است. این دو پروتئین به‌صورت مونومر فعالیت می‌کنند و ژن‌هایشان جزء «ابرخانوادۀ گلوبین» محسوب می‌شود.

بعد از رخدادهای مضاعف‌شدگی، تفاوتی که بین ژن‌های مجموعۀ گلوبین وجود دارد، بدون شک ناشی از جهش‌هایی است که در طول نسل‌های بسیار، در کپی‌های ژنی تجمع یافتند. مدلی که امروزه وجود دارد این است که عملکرد ضروری توسط یک پروتئین α- گلوبین که برای مثال توسط یک ژن تولید می‌شد، تأمین می‌گردید، درحالی‌که کپی‌های دیگر ژن α- گلوبین جهش‌های تصادفی مختلفی را در خود انباشته کردند. احتمالاً بعضی از جهش‌ها اثر منفی روی جاندار داشته‌اند درحالی‌که بعضی دیگر هیچ اثری ایجاد نکرده‌اند. تعداد کمی از این جهش‌ها هم

1- Gene- sized
2- Slippage



شکل ۱۴-۲۱ **مدلی برای تکامل خانواده‌های ژنی α ـ گلوبین و β ـ گلوبین از یک ژن گلوبین اجدادی مشترک.**

مناطق سبزرنگ، ژن‌های کاذب هستند. توضیح دهید این ژن‌ها چگونه بعداز مضاعف‌شدگی ظهور پیدا کرده‌اند.

جدول ۲-۲۱ **درصد شباهت در توالی آمینواسیدیِ پروتئین‌های گلوبین انسانی**

		α-Globins		β-Globins		
		α	ζ	β	γ	ε
α-Globins	α	—	58	42	39	37
	ζ	58	—	34	38	37
β-Globins	β	42	34	—	73	75
	γ	39	38	73	—	80
	ε	37	37	75	80	—

عملکرد محصول پروتئینی را به نحو سودمندی برای جاندار در یک مرحلهٔ خاص از زندگی تغییر داده‌اند، بدون اینکه عملکرد پروتئین برای حمل اکسیژن را اساساً از بین برده باشند. احتمالاً انتخاب طبیعی روی این ژن‌های تغییریافته عمل کرده و باعث تثبیت آنها در جمعیت شده است.

تشابه توالی‌های آمینواسیدی پلی‌پپتیدهای α- گلوبین و β-گلوبین مختلف، از مدل مضاعف‌شدگی و جهش ژن حمایت می‌کند (**جدول ۲-۲۱**). برای مثال، توالی‌های آمینواسیدی β- گلوبین‌ها به یکدیگر بسیار شبیه‌ترند تا به توالی‌های α- گلوبین. وجود ژن‌های کاذب متعدد در میان ژن‌های گلوبین عملکردی، شواهد بیشتری به نفع این مدل ارائه می‌کند (شکل 11b-۲۱ را ببینید). جهش‌های تصادفی در این «ژن‌ها» در طول دورهٔ تکامل، عملکرد آنها را از بین برده است.

تکامل ژن‌های دارای عملکرد جدید

در طول تکامل خانواده‌های ژنی گلوبین، مضاعف شدن ژن و انشعابات بعدی، اعضایی برای این مجموعه به‌وجود آورده است که محصولات پروتئینی‌شان، عملکردهای مشابهی دارند (انتقال اکسیژن). برعکس، یک کپی از یک ژن مضاعف‌شده ممکن است دچار تغییراتی شود که یک محصول پروتئینی با عملکرد کاملاً متفاوت برای آن ایجاد کند. ژن‌های لیزوزیم و α- لاکت‌آلبومین، مثال‌های خوبی برای این مورد هستند.

لیزوزیم، آنزیمی است که جانوران را در مقابل ابتلا به عفونت‌های باکتریایی، از طریق هیدرولیز کردن دیوارهٔ سلولی باکتری‌ها، محافظت می‌کند. α- لاکت‌آلبومین یک پروتئین غیرآنزیمی است که در تولید شیر در پستانداران نقش دارد. این دو پروتئین در توالی‌های آمینواسیدی و ساختار سه‌بعدی خود تقریباً مشابه هستند. هر دو ژن در پستانداران وجود دارند، درحالی‌که فقط ژن لیزوزیم در پرندگان یافت می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد، زمانی بعد از اینکه دودمان‌های پستانداران و پرندگان از هم جدا شدند، ژن لیزوزیم در ردهٔ پستانداران دچار یک مضاعف‌شدگی شد ولی این اتفاق در دودمان پرندگان نیافتاد. پس از آن یک کپی از ژن لیزوزیم به ژنی که α- لاکت‌آلبومین را رمز می‌کرد، تکامل یافت، پروتئینی که یک عملکرد کاملاً متفاوت داشت.

بازآرایی قسمت‌های مختلف ژن‌ها: مضاعف‌شدن اگزون‌ها و بُر خوردن اگزون‌ها

بازآرایی توالی‌های DNAی موجود در ژن‌ها نیز به تکامل ژنوم کمک کرده است. وجود اینترون‌ها در بیشتر ژن‌های یوکاریوت‌های پرسلولی، احتمالاً تکامل پروتئین‌های سودمند جدید را، از طریق تسهیل مضاعف شدن یا جابه‌جایی اگزون‌ها در ژنوم، تسریع کرده است. از فصل ۱۷ به‌یاد آورید که یک اگزون اغلب یک دُمین، یعنی یک قسمت ساختاری یا عملکردی مجزا در یک پروتئین را رمز می‌کند.

قبلاً دیده‌ایم که کراسینگ اور نابرابر در طول میوز می‌تواند منجر به مضاعف شدن یک ژن روی یک کروموزوم و از دست رفتن آن در کروموزوم همتا شود (شکل ۱۳-۲۱ را ببینید). در یک فرایند مشابه، یک اگزون خاص در یک ژن ممکن است روی یک کروموزوم مضاعف شود و در دیگری حذف گردد. ژنی که اگزون مضاعف را دارد، پروتئینی با یک کپی اضافی از آن دُمین خواهد داشت. این تغییر در ساختار پروتئین می‌تواند عملکرد آن را از طریق افزایش پایداری آن، افزایش توان آن در اتصال به یک مادهٔ خاص یا تغییر بعضی ویژگی‌های دیگر، تقویت کند. معدودی از ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین، کپی‌های متعدد از اگزون‌های مرتبطی دارند که احتمالاً از مضاعف‌شدگی منشأ گرفته و سپس منشعب شده‌اند. ژنی که پروتئین کلاژن ماتریکس خارج‌سلولی را رمز می‌کند، مثال خوبی در این زمینه است. کلاژن یک پروتئین ساختاری با یک توالی آمینواسیدی بسیار تکرارشونده است که ناشی از الگوی تکراری اگزون‌ها در ژن کلاژن می‌باشد.

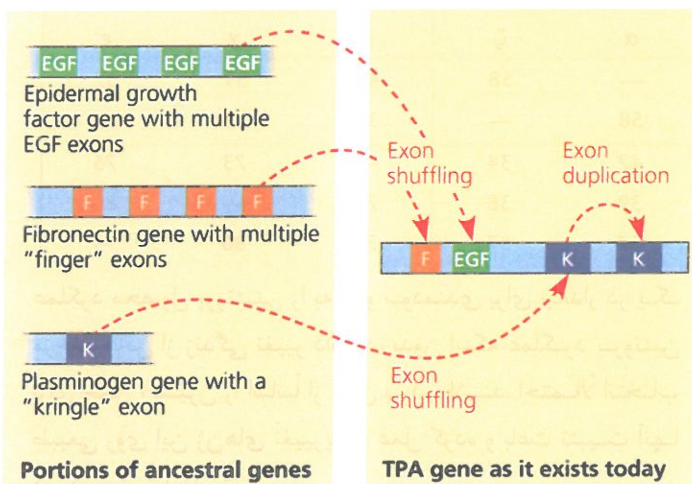
همچنین می‌توانیم مخلوط شدن اگزون‌های متفاوت را درون یک ژن یا بین دو ژن غیرآللی، درنتیجهٔ خطاهای نوترکیبی میوزی، تصور کنیم. این فرایند که *بُر خوردن اگزون*[1] نامیده می‌شود، می‌تواند پروتئین‌های جدید با عملکردهای جدید تولید کنند. به‌عنوان یک مثال، ژن فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی (TPA) را در نظر بگیرید. پروتئین TPA یک پروتئین خارج سلولی است که به کنترل لخته شدن خون کمک می‌کند. این پروتئین چهار دُمین از سه نوع دارد که هر یک توسط یک اگزون رمز می‌شوند؛ یک اگزون در دو کپی وجود دارد. از آنجایی‌که هر نوع از این اگزون‌ها در پروتئین‌های دیگر هم یافت می‌شوند، احتمال دارد ژن TPA از طریق اختلاط و مضاعف شدن متعدد اگزون‌ها ایجاد شده باشد (**شکل ۱۵-۲۱**).

قطعات قابل جابه‌جایی چگونه به تکامل ژنوم کمک می‌کنند

وجود قطعات قابل جابه‌جایی به‌عنوان کسر بزرگی از بعضی ژنوم‌های یوکاریوتی، مطرح‌کنندهٔ این ایده است که این قطعات نقش مهمی در شکل دادن ژنوم، در طول دورهٔ تکامل ایفا کرده‌اند. این قطعات از راه‌های مختلفی می‌توانند به تکامل ژنوم کمک کنند. آنها می‌توانند نوترکیبی را تقویت کنند، ژن‌های سلولی یا قطعات کنترلی را تخریب نمایند یا اینکه کل ژن یا اگزون‌های منفرد را به مکان‌های جدیدی انتقال دهند.

قطعات قابل جابه‌جایی با توالی‌های مشابه که در کل ژنوم پراکنده شده‌اند، از طریق فراهم کردن مناطق همتا برای کراسینگ اور، نوترکیبی را بین کروموزوم‌های متفاوت تسهیل می‌نمایند. احتمالاً بیشتر چنین تغییراتی زیان‌آور هستند و باعث جابه‌جایی‌های کروموزومی و تغییرات دیگر در ژنوم می‌شوند که ممکن است برای جاندار کشنده باشند. ولی در طول دورهٔ تکامل، گاهی چنین نوترکیبی‌هایی برای جانداران، سودمند واقع شده است. (البته برای اینکه تغییر قابل توارث باشد، باید در سلول‌هایی رخ دهد که به گامت تبدیل می‌شوند.)

حرکت قطعات قابل جابه‌جایی، همچنین می‌تواند عواقب مستقیمی داشته باشد. برای مثال، اگر یک قطعهٔ قابل جابه‌جایی به وسط یک توالی رمزکنندهٔ پروتئین «بپرد»، از رونویسی طبیعی آن ژن جلوگیری خواهد کرد. اگر یک قطعهٔ قابل جابه‌جایی وارد یک توالی تنظیم‌کننده شود، این جابه‌جایی ممکن است باعث افزایش یا کاهش تولید یک یا چند پروتئین گردد. جابه‌جایی، هر دو اثر ذکرشده را روی ژن‌های رمزکنندهٔ آنزیم‌های سازندهٔ رنگیزه در دانه‌های ذرت مک‌کلینتوک، اعمال کرده بود. درحالی‌که چنین تغییراتی معمولاً زیان‌آورند، در طولانی‌مدت، بعضی از آنها ممکن است با ایجاد فواید مهم، سودمند باشند.



شکل ۱۵-۲۱ تکامل یک ژن جدید به‌وسیلهٔ بُر خوردن اگزون‌ها.
اختلاط اگزون‌ها احتمالاً اگزون‌های ژن‌های اجدادی فاکتور رشد اپیدرمی، فیبرونکتین و پلاسمینوژن (چپ) را به ژن تکامل‌یافتهٔ فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی، TPA (راست)، منتقل کرده است. ترتیبی که این اتفاقات افتاده‌اند، ناشناخته است. مضاعف‌شدگی اگزون K از ژن پلاسمینوژن بعد از انتقالش می‌تواند مسئول وجود دو کپی از این اگزون در ژن TPA باشد. هر نوع اگزون یک دُمین خاص از پروتئین TPA را رمز می‌کند.


وجود قطعات قابل جابه‌جایی در اینترون‌ها، چگونه فرایند اختلاط اگزون‌ها را تسهیل کرده است؟

1- Exon shuffling

طی جابه‌جایی، یک قطعهٔ قابل جابه‌جایی ممکن است یک ژن یا گروهی ژن را به مکان جدیدی در ژنوم انتقال دهد. این مکانیسم احتمالاً مسئول ایجاد مکان ژن‌های α- گلوبین و β- گلوبین روی کروموزوم‌های متفاوت انسانی است. در فرایندی مشابه، یک اگزون مربوط به یک ژن ممکن است با مکانیسمی مشابه اختلاط اگزون‌ها در نوترکیبی، وارد یک ژن دیگر شود. برای مثال، ممکن است یک اگزون از طریق جابه‌جایی وارد اینترون یک ژن رمزکنندهٔ پروتئین شود. اگر اگزون وارد شده در رونوشت RNA، در طول پیرایش RNA باقی بماند، پروتئینی که ساخته می‌شود، یک دُمین اضافی خواهد داشت که ممکن است یک عملکرد جدید برای پروتئین مذکور ایجاد نماید.

آشکارا، تمام فرایندهایی که در این بخش مورد بحث قرار گرفت اغلب اثرات زیان‌آوری ایجاد می‌کنند که ممکن است کشنده باشند یا اینکه هیچ اثری ایجاد نکنند. در تعداد کمی از موارد، تغییرات کوچک سودمندی ممکن است رخ دهد. در طول نسل‌های بسیار، نتیجهٔ تنوع ژنتیکی، ایجاد مادهٔ خام ارزشمندی برای انتخاب طبیعی بوده است. انشعاب ژن‌ها و محصولات‌شان، فاکتور مهمی برای تکامل گونه‌های جدید است. بنابراین، تجمع تغییرات در ژنوم هر گونه، مدارکی از تاریخچهٔ تکاملی آن در اختیار قرار می‌دهد. برای خواندن این پیشینه باید قادر باشیم، تغییرات ژنتیکی را تشخیص دهیم. مقایسهٔ ژنوم گونه‌های مختلف اجازهٔ این کار را به ما می‌دهد و دانسته‌های ما را در مورد تکامل ژنوم‌ها افزایش داده است. در مورد این موضوعات در مبحث آخر بیشتر می‌آموزید.

پرسش‌های مبحث ۵-۲۱

۱. سه مثال از خطاهای فرایندهای سلولی که منجر به مضاعف‌شدگی DNA می‌شوند را شرح دهید.

۲. توضیح دهید چگونه اگزون‌های متعدد در ژن‌های EGF و فیبرونکتین اجدادی که در شکل ۱۵-۲۱ (چپ) نشان داده شده‌اند، ظاهر گشته‌اند؟

۳. سه روشی که قطعات قابل جابه‌جایی به‌وسیلهٔ آنها به تکامل ژنوم کمک می‌کنند، کدام‌ها هستند؟

۴. **چه می‌شد اگر؟** در سال ۲۰۰۵، دانشمندان ایسلندی اعلام کردند، یک واژگونی کروموزومی بزرگ در ۲۰٪ از افراد اروپای شمالی یافته‌اند و اشاره نمودند، زنان ایسلندی که این واژگونی را دارند به‌طور واضحی، فرزندان بیشتری نسبت به زنان بدون این واژگونی دارا هستند. انتظار دارید در مورد فراوانی این واژگونی در جمعیت ایسلندی در نسل‌های بعدی چه اتفاقی بیافتد؟

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

۶-۲۱ مقایسهٔ توالی‌های ژنومی، سرنخ‌هایی از تکامل و تکوین به‌دست می‌دهد

یک محقق، وضعیت کنونی زیست‌شناسی را به دورهٔ اکتشافات در قرن ۱۵، بعد از پیشرفت‌های اساسی در جهت‌یابی و ساخت کشتی‌های سریع‌تر، شبیه می‌داند. در ۲۵ سال اخیر، پیشرفت‌های سریعی را در توالی‌یابی ژنوم و جمع‌آوری اطلاعات، تکنیک‌های جدید برای ارزیابی فعالیت ژن در کل ژنوم و راه‌کارهای مناسب برای درک چگونگی عملکرد ژن‌ها و محصولات‌شان با یکدیگر در سیستم‌های پیچیده، دیده‌ایم. ما واقعاً در آستانهٔ ورود به جهان جدیدی هستیم.

مقایسهٔ ژنوم گونه‌های مختلف، اطلاعات زیادی را دربارهٔ تاریخچهٔ تکاملی حیات، از زمان‌های بسیار دور تا امروز، آشکار می‌کند. به‌طور مشابهی، اطلاعات مقایسه‌ای ژنتیکی که تکوین جنینی را در گونه‌های مختلف مورد هدف قرار می‌دهند، شروع به روشن کردن مکانیسم‌هایی کرده‌اند که این تنوع عظیم را در اشکال حیات که امروزه وجود دارد، ایجاد کرده‌اند. در قسمت آخر این فصل، بررسی خواهیم کرد که از این دو راه‌کار چه آموخته‌ایم.

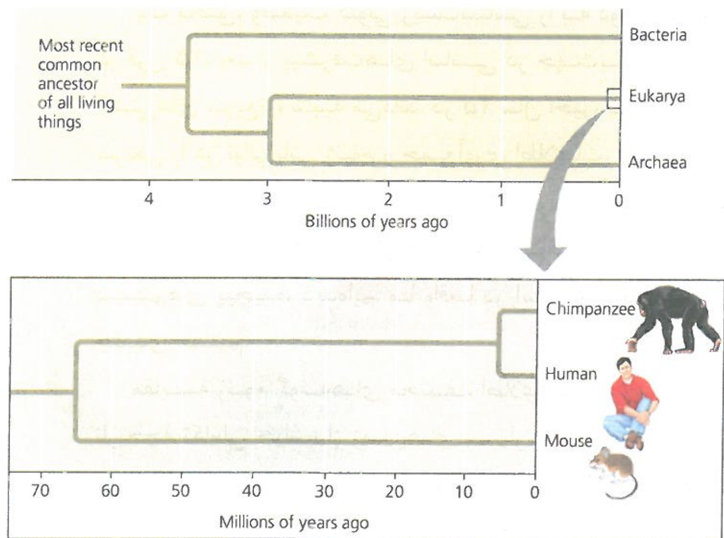
مقایسهٔ ژنوم‌ها

هرچه توالی‌های ژنی و ژنوم دو گونه به هم نزدیک‌تر باشد، این دو گونه از نظر تاریخچهٔ تکاملی به هم نزدیک‌ترند. مقایسهٔ ژنوم گونه‌های بسیار نزدیک، رخدادهای تکاملی جدیدتر را آشکار می‌کند، در حالی‌که مقایسهٔ ژنوم گونه‌های با نسبت بسیار دور، تاریخچهٔ تکاملی نیاکان را برای ما روشن می‌کند. در هر دو مورد، آموختن ویژگی‌های مشترک یا متفاوت گروه‌ها، تصور ما را از تکامل اشکال حیات و فرایندهای زیستی روشن‌تر خواهد ساخت. همان‌طور که در فصل ۱ آموختید، ارتباط تکاملی بین گونه‌ها می‌توانند با نموداری به شکل درخت نمایش داده شود، به‌طوری‌که هر شاخهٔ آن انشعاب دو دودمان مختلف را مشخص می‌نماید. **شکل ۱۶-۲۱** ارتباط تکاملی بعضی گروه‌ها و گونه‌هایی را که در مورد آنها بحث خواهیم کرد، نشان می‌دهد. ابتدا مقایسهٔ گونه‌های با ارتباط دور را در نظر خواهیم گرفت.

مقایسهٔ گونه‌های با نسبت دور

آنالیز کردن ژن‌هایی که مشابه باقی مانده‌اند، یعنی همان ژن‌های به‌شدت حفظ‌شده[1] در گونه‌های با نسبت دور، می‌توانند به روشن شدن ارتباط تکاملیِ گونه‌هایی که در زمان‌های بسیار دور از

1- Highly conserved



◀ شکل ۱۶-۲۱ **ارتباط تکاملی سه قلمرو حیات.** این نمودار درختی، انشعاب باکتری‌ها، آرکی‌باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها را نشان می‌دهد. قسمتی از دودمان یوکاریوت‌ها در پایین گسترش داده شده است و انشعاب جدیدتر سه گونهٔ پستاندار مورد بحث در این فصل را نشان می‌دهد.

هم مشتق شده‌اند، کمک کند. در حقیقت، مقایسهٔ توالی ژنومی کامل باکتری‌ها، آرکی‌باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها، نشان می‌دهد که این سه گروه بین ۲ تا ۴ میلیارد سال قبل، انشعاب پیدا کرده‌اند و به‌شدت از این تئوری حمایت می‌کند که این سه گروه، قلمروهای اصلی حیات هستند (شکل ۱۶-۲۱ را ببینید).

مطالعات ژنومی مقایسه‌ای، علاوه بر ارزشی که در زیست‌شناسی تکاملی دارند، به ما کمک می‌کنند تا اعتبار تحقیقاتی که روی جانداران مدل، برای افزایش دانسته‌های ما از زیست‌شناسی عمومی و زیست‌شناسی انسانی انجام می‌شوند را تأیید کنیم. به‌طور عجیبی، ژن‌هایی که در زمان‌های بسیار دور تکامل پیدا کردند، هنوز ممکن است در گونه‌های دور، مشابه باشند. برای مثال، بسیاری از ژن‌های مخمر به بسیاری از ژن‌های بیماری‌زای انسانی شباهت زیادی دارند، به‌طوری که محققان عملکرد این ژن‌های بیماری‌زا را از روی مطالعهٔ همتای مخمری‌شان استنباط کرده‌اند. این شباهت شدید منشأ مشترک این دو گونهٔ با نسبت دور را تأیید می‌کند.

مقایسهٔ گونه‌های با نسبت نزدیک

ژنوم دو گونهٔ با نسبت نزدیک، به نظر می‌رسد که به‌طور مشابهی سازماندهی شده باشند و این به علت انشعاب اخیر این دو گونه می‌باشد. همان‌طور که قبلاً اشاره کردیم این ارتباط نزدیک به ما اجازه می‌دهد تا از ژنوم توالی‌یابی‌شدهٔ کامل یک گونه، به‌عنوان چارچوبی برای سرهم کردن توالی ژنومی گونهٔ بسیار نزدیک آن، استفاده کنیم. برای مثال، محققان با استفاده از ژنوم توالی‌یابی‌شدهٔ انسان، توانستند ژنوم شامپانزه را سریعاً توالی‌یابی کنند.

انشعاب اخیر دو گونهٔ با نسبت نزدیک، زمینه‌ساز تعداد تفاوت‌های ژنی کم در این دو گونه است. بنابراین تفاوت‌های ژنتیکی مشخص می‌توانند به آسانی به تفاوت‌های فنوتیپی بین دو گونه نسبت داده شوند. یک کاربرد جالب این نوع آنالیز، مقایسهٔ ژنوم انسان با ژنوم شامپانزه، موش، رت و پستانداران دیگر است. یافتن ژن‌های مشترک در تمام این گونه‌ها و نبود آنها در گونه‌های غیرپستاندار، ایده‌هایی در مورد ژن‌های لازم برای ایجاد یک پستاندار به ما می‌دهد. درحالی‌که یافتن ژن‌های مشترک در شامپانزه و انسان و نبود آنها در جوندگان، باید مطالبی در مورد پریمات‌ها را برای ما آشکار کند. و البته مقایسهٔ ژنوم انسان و شامپانزه به ما کمک می‌کند که سؤالی را که در ابتدای فصل پرسیدیم پاسخ دهیم: چه اطلاعات ژنومی، یک انسان یا یک شامپانزه را می‌سازد؟

یک آنالیز از ترکیب کلی ژنوم انسان و شامپانزه، یعنی دو گونه‌ای که تصور می‌شود فقط حدود ۶ میلیون سال قبل از هم جدا شده باشند (شکل ۱۶-۲۱ را ببینید)، بعضی تفاوت‌های کلی را آشکار می‌سازد. با در نظر گرفتن تفاوت‌های موجود در یک تک‌باز، این دو ژنوم فقط در ۱/۲٪ با هم متفاوتند. ولی وقتی محققان قسمت‌های بلندتری از دو DNA را مقایسه نمودند، ۲/۷٪ تفاوت در این دو ژنوم یافتند که به علت اضافه شدن‌ها یا حذف قطعات بزرگ‌تر در هر یک از این دوگونه بود؛ بسیاری از اضافه شدن‌ها، مضاعف‌شدگی یا DNA تکراری بودند. در حقیقت، یک سوم مضاعف‌شدگی‌های انسان در ژنوم شامپانزه وجود ندارد و بعضی از این مضاعف‌شدگی‌ها مربوط به مناطق مرتبط به بیماری‌های انسانی است. قطعات *آلو* بیشتری در ژنوم انسان نسبت به ژنوم شامپانزه وجود دارد. به‌علاوه، ژنوم شامپانزه کپی‌های متعددی از پروویروس‌های رتروویرال دارد که در ژنوم انسان وجود ندارند. تمام این مشاهدات ایده‌هایی دربارهٔ نیروهایی که این دو ژنوم را در دو مسیر جداگانه قرار داده است، به دست می‌دهند، ولی دانسته‌های ما هنوز کامل نیستند. به‌علاوه، ما نمی‌دانیم چگونه این تفاوت‌ها مسئول ویژگی‌های بسیار متفاوت این دو گونه هستند.

برای کشف اساس تفاوت‌های فنوتیپی بین دو گونه، زیست‌شناسان درحال مطالعهٔ ژن‌های خاص و انواعی از ژن‌ها که در انسان‌ها و شامپانزه‌ها متفاوتند، می‌باشند و این ژن‌ها را با

همتاهایشان در پستانداران دیگر مقایسه می‌کنند. این روش تعدادی از ژن‌ها را مشخص کرده است که ظاهراً در انسان‌ها نسبت به شامپانزه یا موش، سریع‌تر تغییر پیدا می‌کنند. بین این ژن‌ها، ژن‌های مقاومت در برابر مالاریا و توبرکلوزیس و حداقل یک ژن تنظیم‌کنندهٔ اندازهٔ مغز قرار دارد. وقتی ژن‌ها را براساس عملکردشان دسته‌بندی کنیم، ژن‌هایی که به نظر می‌رسد سریع‌تر تکامل پیدا می‌کنند، آنهایی هستند که فاکتورهای رونویسی را رمز می‌کنند. این یک خبر جالب توجه است، زیرا فاکتورهای رونویسی، بیان ژن را تنظیم می‌کنند و بنابراین نقش کلیدی در هدایت کلی برنامهٔ ژنتیکی دارند.

یک فاکتور رونویسی که به نظر می‌رسد ژن آن در دودمان انسان دچار تغییر سریع شده است *FOXP2* نام دارد. شواهد متعددی وجود دارد که مطرح می‌کنند، ژن *FOXP2* در صداسازی مهره‌داران نقش دارد. جهش در این ژن می‌تواند باعث نقایص شدید گفتاری و زبانی در انسان شود. به‌علاوه، ژن *FOXP2* در مغز سهرهٔ خطدار، زمانی‌که این پرندگان در حال آموختن آوازهایشان هستند، بیان می‌شود. ولی احتمالاً قوی‌ترین شواهد از مطالعهٔ جوزف باکس‌بام[1] و همکارانش حاصل شده است. آنها در این مطالعه، ژن *FOXP2* را در موش از کار انداختند و فنوتیپ حاصل را بررسی نمودند (**شکل ۱۷-۲۱**). موش جهش‌یافتهٔ هموزیگوت، مغز ناقصی داشت و نمی‌توانست صداسازی طبیعی را انجام دهد. موش‌هایی هم که یک کپی معیوب از ژن را داشتند، مشکلات اساسی در صداسازی نشان دادند. این نتایج از این ایده که محصول ژن *FOXP2*، ژن‌های مسئول صداسازی را فعال می‌کند، حمایت می‌کنند.

برای بسط این تحلیل، گروه تحقیقاتی دیگری اخیراً ژن*FOXP2* را در موش با یک نسخهٔ «انسانی‌شده»، که در انسان و شامپانزه در دو آمینواسید با هم تفاوت دارند، جابه‌جا کردند. تغییر دو آمینواسید در انسان نسبت به شامپانزه باعث ایجاد توانایی تکلم در انسان می‌شود. اگرچه موش‌ها عموماً سالم بودند، صداسازی‌های دقیقاً متفاوتی داشتند و تغییراتی در سلول‌های مغزی در مدارهای مرتبط با تکلم در مغز انسان را نشان دادند.

داستان ژن *FOXP2* یک نمونهٔ عالی در این مورد است که چگونه راه‌کارهای مختلف، یکدیگر را در آشکار ساختن یک پدیدهٔ زیستی مهم کامل می‌کنند. آزمایشی که در شکل ۱۷-۲۱ توضیح داده شده است، از موش به‌عنوان مدلی از انسان استفاده می‌کند زیرا انجام این‌گونه آزمایش‌ها روی انسان غیراخلاقی و غیرعملی است. موش‌ها و انسان‌ها حدود ۶۵/۵ میلیون سال قبل از هم انشعاب پیدا کردند (شکل ۱۶-۲۱ را ببینید) و ٪۸۵ از ژن‌هایشان مشترک است. از این تشابه ژنتیکی می‌توان در سایر مطالعات اختلالات ژنتیکی انسان، استفاده نمود. اگر محققان اندام یا بافتی را که در یک اختلال ژنتیکی خاص آسیب می‌بینند، بشناسند می‌توانند ژن‌هایی را که در این مکان‌ها بیان می‌شوند، با استفاده از آزمایش روی موش‌ها، جستجو کنند.

تحقیقات دیگری نیز درحال انجامند تا مطالعات ژنتیکی را به بسیاری از گونه‌های میکروبی دیگر، پریمات‌های دیگر و گونه‌های منشعب‌شده در درخت زندگی که نادیده گرفته شده‌اند، گسترش دهند. این مطالعات دانسته‌های ما را دربارهٔ تمام جنبه‌های زیست‌شناسی، از جمله سلامت، بوم‌شناسی و تکامل، به حداکثر خواهند رساند.

مقایسهٔ ژنوم‌ها در یک گونه

یک جنبهٔ دیگر از مطالعات، که پایهٔ توانایی ما در آنالیز ژنوم‌هاست، افزایش دانسته‌های ما از طیف تنوع ژنتیکی در انسان‌ها می‌باشد. از آنجایی‌که تاریخچهٔ گونهٔ انسانی بسیار کوتاه (احتمالاً ۲۰۰۰۰۰ سال) است، مقدار تنوع DNA در بین انسان‌ها، نسبت به سایر گونه‌ها کم‌تر می‌باشد. اکثر تنوع موجود در انسان‌ها به نظر می‌رسد که از نوع پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs که در فصل ۲۰ شرح داده شد) باشد و معمولاً از طریق توالی‌یابی DNA آشکار می‌گردد. در ژنوم انسان، SNPها به‌طور میانگین یک‌بار در هر ۱۰۰ تا ۳۰۰ جفت‌باز اتفاق می‌افتند. دانشمندان تاکنون مکان چندین میلیون SNP را در ژنوم انسان یافته‌اند و درحال کشف تعداد بیشتری نیز هستند.

علاوه بر این جستجو، آنها تنوع‌های دیگری را نیز یافته‌اند که شامل واژگونی‌ها، حذف‌ها و مضاعف‌شدگی‌ها می‌باشد. شگفت‌آورترین کشف مربوط به تعداد متغیر نسخه‌ها (CNVs) بوده است، لوکوسی که برخی افراد، نسبت به شکل استاندارد آن که دو نسخه است (یکی در هر همتا)، دارای یک یا چندین نسخه از یک ژن خاص یا یک ناحیهٔ ژنتیکی هستند. CNVها از مناطقی از ژنوم که به صورت غیر ثابت در میان جمعیت مضاعف و یا حذف شده‌اند، به‌وجود می‌آیند. مطالعهٔ سال ۲۰۱۰ روی چهل نفر بیش از ۸۰۰۰ CNV، که حدود ٪۱۳ ژن‌های ژنوم را شامل می‌شود، را پیدا کرد؛ و این CNVها شاید فقط جزء کوچکی از تمام آنچه هست باشند. از آنجا که این متغیرها در بردارندهٔ قطعات بسیار بزرگ‌تر DNA نسبت به نوکلئوتیدهای واحد در SNPها هستند، به نظر می‌رسد که پیامدهای فنوتیپی بیشتری داشته باشند و نقش مهمی در بیماری‌ها و ناهنجاری‌های پیچیده بازی می‌کنند. حداقل، وقوع بالای تعداد متغیر نسخه، مفهوم و معنای عبارت «ژنوم طبیعی انسان» را به شک می‌اندازد.

1- Joseph Buxbaum

◄ شکل ۱۷-۲۱ تحقیق

عملکرد ژن *FOXP2* که در ردهٔ انسانی به سرعت در حال تکامل است، چیست؟



آزمایش: چندین سری از شواهد، از نقش ژن *FOXP2* در تکوین گفتار و زبان در انسان و صداسازی در سایر مهره‌داران، حمایت می‌کنند. در سال ۲۰۰۵، جوزف باکس‌بام و همکارانش در دانشگاه پزشکی مونت سینای و مجموعه‌ای مؤسسات دیگر، آزمایشی برای تشخیص عملکرد ژن *FOXP2* طراحی کردند. آنها از موش به‌عنوان مدل استفاده کردند چون می‌توان ژن‌ها را به راحتی در آن غیرفعال کرد. موش‌ها جز مهره‌دارانی هستند که صدا تولید می‌کنند (موش‌ها از امواج فراصوت برای انتقال استرس استفاده می‌کنند.) محققان از روش‌های مهندسی ژنتیک برای ایجاد موش‌هایی که یکی یا هر دو کپی ژن *FOXP2* آنها غیرفعال شده بود، استفاده کردند.

Wild type: two normal copies of *FOXP2*	Heterozygote: one copy of *FOXP2* disrupted	Homozygote: both copies of *FOXP2* disrupted

سپس فنوتیپ این سه موش باهم مقایسه کردند. دو ویژگی که مورد بررسی قرار گرفتند آناتومی مغز و صداسازی است.

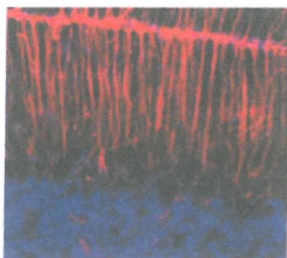
آزمایش ۱: محققان برش‌های نازکی از مغز تهیه کرده و آنها را با عواملی رنگ‌آمیزی نمودند که امکان مشاهدهٔ آناتومی مغز را در میکروسکوپ فلورسانس فراهم می‌کرد.

آزمایش ۲: محققان هر نوزاد تازه به دنیا آمده را از مادرش جدا کردند و تعداد سوت‌های فراصوتی را که تولید می‌کرد ضبط نمودند.

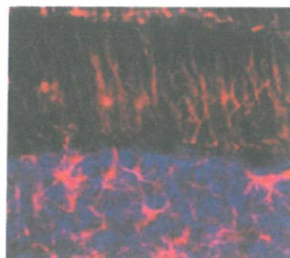
نتایج:

آزمایش ۱: غیرفعال‌سازی هر دو کپی ژن *FOXP2* باعث ایجاد ناهنجاری‌های مغزی شد که در آن، سلول‌ها سازماندهی خود را از دست می‌دادند. اثرات فنوتیپی روی مغز هتروزیگوت‌ها، با یک کپی ژن غیرفعال، شدت کمتری داشت.

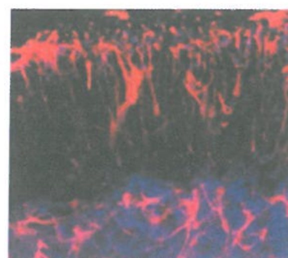
آزمایش ۲: غیرفعال شدن هر دو کپی ژن *FOXP2* باعث حذف صداسازی فراصوتی در پاسخ به استرس شد. اثرات روی صداسازی در هتروزیگوت‌ها هم شدید بود.



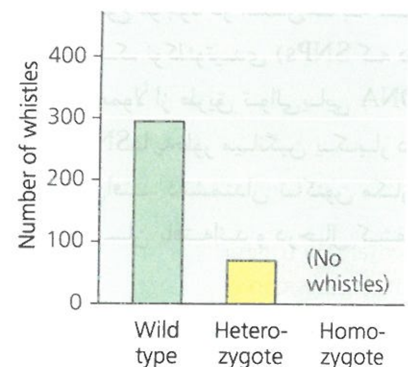
Wild type



Heterozygote



Homozygote



نتیجه‌گیری:

FOXP2 نقش اساسی در تکوین سیستم‌های ارتباطی در موش‌ها دارد. این نتایج، شواهد حاصل از مطالعات روی موش‌ها و انسان‌ها را تقویت کرده و از این فرضیه که *FOXP2* در گونه‌های متفاوت به‌طور مشابهی عمل می‌کند، حمایت می‌نماید.

منبع: W. Shu et al., Altered ultrasonic vocalization in mice with a disruption in the *Foxp2* gene, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 9643-9648 (2005).

چه می‌شد اگر؟

از آنجایی که نتایج از نقش *FOXP2* در صداسازی موش حمایت می‌کنند، ممکن است فکر کنید که پروتئین *FOXP2* انسانی نقش کلیدی در تنظیم گفتار انسان داشته باشد. اگر توالی‌های آمینواسیدی نوع طبیعی و جهش‌یافتهٔ ژن *FOXP2* انسانی و نوع طبیعی پروتئین *FOXP2* در شامپانزه را داشته باشید، این سؤال را چگونه بررسی خواهید کرد؟ از مقایسهٔ این توالی‌ها با توالی پروتئین *FOXP2* موش چه ایده‌های جدیدی به‌دست خواهید آورد؟

CNVها، SNPها و گوناگونی‌های DNA تکراری مثل تکرارهای متوالی کوتاه یا STRها برای مطالعهٔ تکامل انسان به عنوان مارکرهای ژنتیکی بسیار مفید خواهند بود. در سال ۲۰۱۰، ژنوم دو آفریقایی از جوامع متفاوت توالی‌یابی شد: Archbishop Desmond Tuta، وکیل مدافع حقوق تمدن آفریقای جنوبی و عضو قبیلهٔ بانتو (Bantu)، پرجمعیت‌ترین قبیله

در آفریقای جنوبی، و Gubi، یک صید جمع‌کن از جامعه Khoisan در نامبیا، کم‌جمعیت‌ترین جامعه آفریقایی که شاید گروهی انسانی با قدیمی‌ترین ردهٔ شناخته شده باشد. همان‌طوری که انتظار می‌رفت، مقایسهٔ این دو فرد با هم پرده از تفاوت‌های زیادی برداشت. سپس آنالیزی برای مقایسهٔ مناطق رمزگردان پروتئینی در ژنوم Gubi با ژنوم سه عضو دیگر جامعهٔ Khoisan (هم‌تبار Bushmanها) ساکن نامبیا ترتیب داده شد. این چهار ژنوم، نسبت به تفاوت ژنوم یک اروپایی و یک آسیایی، مشخصاً دارای تفاوت‌های بسیار بیشتری بودند. این اطلاعات تنوع بسیار گسترده‌ای را در میان ژنوم آفریقایی‌ها روشن ساخت. توسعهٔ این روش به ما در پاسخ به سؤالات مهمی دربارهٔ اختلافات بین جوامع انسانی و مسیرهای مهاجرتی جوامع انسانی در طول تاریخ کمک خواهد کرد.

مقایسهٔ فرایندهای تکوینی

زیست‌شناسان رشتهٔ تکوینی-تکاملی[1] یا **evo-devo**، فرایندهای نمو جانداران پرسلولی مختلف را مقایسه می‌کنند. هدف آنها فهمیدن چگونگی تکامل این فرایندها است و اینکه چگونه تغییر این فرایندها می‌تواند ویژگی‌های موجود را تغییر دهد یا منجر به ایجاد موجودات جدید شود. با ظهور تکنیک‌های مولکولی و سیل اخیر اطلاعات ژنومی، ما متوجه شده‌ایم که ژنوم گونه‌های مرتبط، حتی با اشکال بسیار متفاوت، تفاوت‌های کمی در توالی‌های ژنی و تنظیم ژن خود دارند. کشف اساس مولکولی این تفاوت‌ها به ما کمک می‌کند تا پایهٔ ایجاد شکل‌های متفاوت و بی‌شمار حیات که در این کره زندگی می‌کنند را درک کنیم.

حفظ همه‌جانبهٔ ژن‌های مربوط به نمو در بین جانوران مختلف

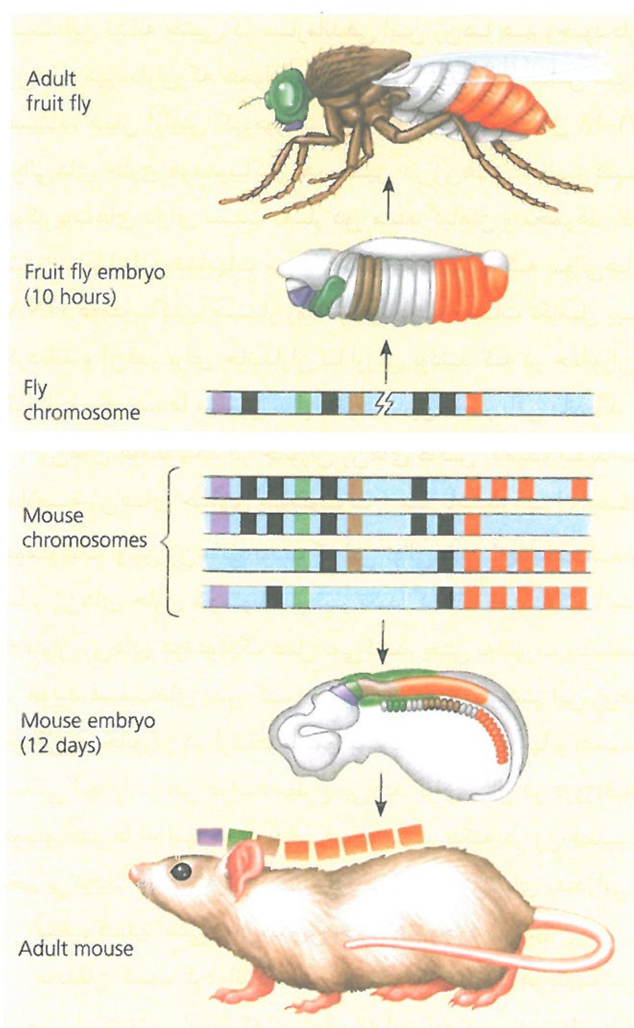
در فصل ۱۸، دربارهٔ ژن‌های هومئوتیک در *دروزوفیلا* که هویت بندهای بدنش را مشخص می‌کنند، آموختید (شکل ۲۰-۱۸ را ببینید). آنالیز مولکولی ژن‌های هومئوتیک در *دروزوفیلا* نشان داده است که همگی آنها یک توالی ۱۸۰ نوکلئوتیدی به‌نام **هومئوباکس**[2] دارند که یک هومئودُمین[3] ۶۰ آمینواسیدی را در پروتئین رمز می‌نماید. یک توالی نوکلئوتیدی یکسان یا بسیار شبیه، در ژن‌های هومئوتیک بسیاری از بی‌مهرگان و مهره‌داران کشف شده است. این توالی‌ها در انسان و مگس سرکه بسیار مشابهند به‌طوری‌که یک محقق، مگس‌های سرکه را «انسان‌های کوچک بالدار» خطاب کرده است. این تشابه حتی در سازماندهی این ژن‌ها هم وجود دارد: ژن‌های مهره‌داران که هومولوگ ژن‌های هومئوتیک در مگس سرکه هستند، همان آرایش کروموزومی را حفظ کرده‌اند (**شکل ۱۸-۲۱**). توالی‌های حاوی هومئوباکس همچنین در ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ یوکاریوت‌های دارای نسبت بسیار دور مانند گیاهان و مخمرها، یافت شده‌اند. ما از این تشابهات می‌توانیم نتیجه بگیریم که توالی‌های DNA هومئوباکس، بسیار زود در تاریخچهٔ حیات تکامل پیدا کرده‌اند و آن‌قدر برای جانداران با ارزش بودند که در جانوران و گیاهان، برای صدها میلیون سال، تقریباً بدون تغییر باقی مانده‌اند.

ژن‌های هومئوتیک در جانوران ژن‌های *هاکس*[4] نامیده شدند که خلاصهٔ ژن‌های حاوی «*هومئوباکس*» می‌باشد، زیرا ژن‌های هومئوتیک اولین ژن‌هایی بودند که این توالی‌ها در آنها یافت شدند. سایر ژن‌های حاوی هومئوباکس نیز بعداً کشف شدند که البته به‌عنوان ژن‌های هومئوتیک عمل نمی‌کنند. یعنی به‌صورت مستقیم بر هویت قسمت‌های بدن کنترل ندارند. به‌هرحال، بیشتر این ژن‌ها حداقل در جانوران در ارتباط با نمو هستند که قدمت آنها و اهمیت اساسی آنها را در این فرایند مطرح می‌کند. برای مثال در دروزوفیلا، هومئوباکس‌ها نه تنها در ژن‌های هومئوتیک، بلکه در ژن قطبیت تخم *بی‌کوئید*[5] (فصل ۱۸ را ببینید)، بسیاری از ژن‌های بندزایی و ژن تنظیم‌کنندهٔ اصلی برای تکوین چشم هم وجود دارند.

محققان کشف کرده‌اند که هومئودمین کد شده با هومئوباکس، قسمتی از پروتئین است که در زمانی‌که این پروتئین به‌عنوان یک تنظیم‌کنندهٔ رونویسی عمل می‌کند، به DNA متصل می‌شود. شکل هومئودمین به آن اجازه می‌دهد تا به هر قطعهٔ DNA متصل شود و خودش به تنهایی قادر نیست که یک توالی اختصاصی را انتخاب کند. بنابراین، دُمین‌های دیگر در پروتئین حاوی هومئودمین که تنوع بیشتری هم دارند، تعیین می‌کنند که پروتئین کدام ژن‌ها را تنظیم کند. تعامل بین این دُمین‌ها به همراه سایر فاکتورهای رونویسی، به پروتئین حاوی هومئودمین این امکان را می‌دهد تا افزاینده‌های خاصی را در DNA شناسایی کند. پروتئین‌های دارای هومئودمین احتمالاً از طریق تنظیم رونویسی ژن‌های مربوط به نمو، تکوین را کنترل می‌کنند و قادرند که این ژن‌ها را خاموش یا روشن نمایند. در جنین دروزوفیلا و سایر گونه‌های جانوری، ترکیب‌های مختلفی از ژن‌های هومئوباکس در قسمت‌های مختلف جنین فعالند. این بیان انتخابی ژن‌های تنظیم‌کننده، که در زمان‌ها و مکان‌های مختلف متفاوت است، اساس تشکیل قالب جاندار می‌باشد.

1- **Evo**lutionary **dev**elopmental biology (evo-devo)
2- Homeobox
3- Homeodomain
4- Hoxgenes
5- Bicoid

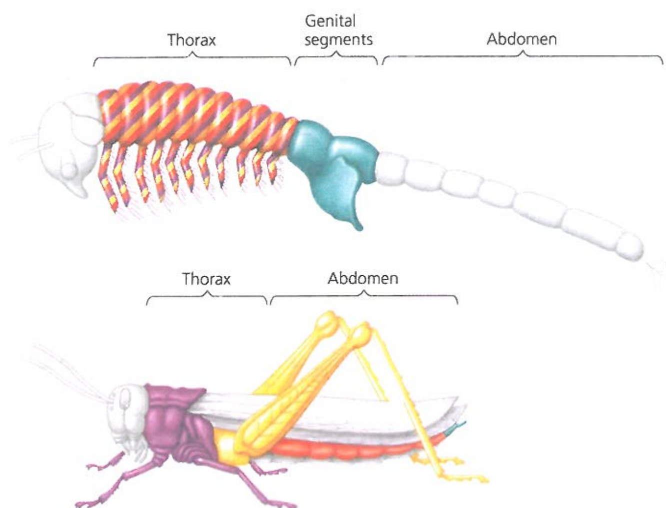
توالی‌های تنظیم‌کنندهٔ ژن‌های خاص باعث تغییر در الگوهای بیان ژن می‌شوند که می‌توانند باعث بروز تغییرات اساسی در شکل بدن گردند. برای مثال، الگوهای متفاوت در بیان ژن‌های هاکس در طول محور بدن در حشرات و سخت‌پوستان می‌تواند تنوع در تعداد قطعات حامل پا را در این حیوانات بندبند توضیح دهد (**شکل ۱۹-۲۱**). به‌علاوه، تحقیقات جدید مطرح می‌کنند که یک محصول ژن هاکس یکسان ممکن است اثرات غیریکسانی در گونه‌های مختلف داشته باشد و ژن‌های جدید یا همان ژن‌ها را در سطح بالاتر یا پایین‌تر روشن نماید. در موارد دیگر، ژن‌های مشابه، فرایندهای تکوین بسیار متفاوتی را در جانداران مختلف هدایت می‌کنند که نتیجهٔ آن اشکال بدنی متفاوت است. برای مثال، چندین ژن هاکس در مرحلهٔ جنینی و لاروی خارپوست دریایی بیان می‌شوند. خارپوست دریایی یک جانور غیربنددار است که ساختار بدنی متفاوتی از حشرات و موش، داراست. خارپوست دریایی بالغ، صدفی به شکل جاسنجاقی دارد که ممکن است آن را روی ساحل دیده باشید. این جاندار جزء جاندارانی است که از مدت‌ها قبل در مطالعات جنین‌شناسی کلاسیک از آن متغیر می‌شده است (فصل ۴۷ را ببینید).



◀ **شکل ۱۸-۲۱ حفظ ژن‌های هومئوتیک در مگس سرکه و موش.** *ژن‌های هومئوتیک که شکل قسمت‌های قدامی و خلفی بدن را کنترل می‌کنند، دارای یک توالی خطی یکسان در کروموزوم‌های دروزوفیلا و موش هستند. هر باند رنگی روی کروموزوم‌ها که در اینجا نشان داده شده، یک ژن هومئوتیک را نمایش می‌دهد. در مگس سرکه، تمام ژن‌های هومئوتیک روی یک کروموزوم وجود دارند. موش و سایر پستانداران مجموعهٔ مشابه یا یکسانی از ژن‌ها را روی چهار کروموزوم دارا هستند. رنگ‌ها نشان‌دهندهٔ قسمت‌هایی از رویان‌ها هستند که در آنها این ژن‌ها بیان می‌شوند و قسمت‌هایی از بدن بالغ را ایجاد می‌کنند. تمام این ژن‌ها اساساً در مگس و موش یکسانند، به‌جز آنهایی که با باند سیاه نشان داده شده‌اند که در دو حیوان کمتر مشابه هستند.*

زیست‌شناسان تکوینی متوجه شده‌اند که علاوه بر ژن‌های هومئوتیک، ژن‌های دیگری هم که در تکوین دخیلند، به شدت در گونه‌های مختلف حفظ شده‌اند. این ژن‌ها شامل ژن‌های متعددی هستند که اجزای مسیرهای پیام‌رسانی را کد می‌کنند. این تشابه غیرعادی در ژن‌های تکوینی خاص در جانوران مختلف، یک سؤال در ذهن ایجاد می‌کند: چگونه ژن‌های یکسان می‌توانند در تکوین جانورانی دخیل باشند که اشکال بسیار متفاوتی نسبت به‌هم دارند؟

مطالعاتی که در حال حاضر در حال انجامند، پاسخ‌هایی برای این سؤال مطرح کرده‌اند. در بعضی موارد، تغییرات کوچک در



◀ **شکل ۱۹-۲۱ اثر تفاوت‌ها در بیان ژن هاکس، در سخت‌پوستان و حشرات.** *تغییر در الگوی بیان چهار ژن هاکس در طول دورهٔ تکامل رخ داده است. این تغییرات مسئول ایجاد الگوهای بدنی متفاوت در میگویی به‌نام آرتمیا که یک سخت‌پوست است (بالا) و یک ملخ که یک حشره می‌باشد، است. در اینجا مناطق بدن موجود بالغ با رنگ‌های مختلف نشان داده شده‌اند که نشان‌دهندهٔ ژن‌های هاکسی است که تشکیل قسمت‌های خاص بدن را در طول نمو جنینی سازماندهی کرده‌اند. هر رنگ یک ژن هاکسی خاص را نشان می‌دهد.*

مقایسهٔ تکوین جانوران و گیاهان

آخرین جد مشترک جانوران و گیاهان احتمالاً یک یوکاریوت تک‌سلولی بوده که صدها میلیون سال قبل زندگی می‌کرده است. بنابراین فرایندهای تکوینی باید به‌صورت مستقل در این دو رده جاندار پرسلولی تکامل پیدا کرده باشند. گیاهان دارای دیواره‌های سلولی سختی هستند که حرکات ریخت‌زایی سلول‌ها و بافت‌ها را که برای جانوران بسیار مهمند، محدود می‌کنند. در عوض، ریخت‌زایی در گیاهان اساساً به اختلاف در صفحات تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها به‌صورت انتخابی بستگی دارد. (در مورد این فرایندها در فصل ۳۵ خواهید آموخت). ولی با وجود این تفاوت‌ها، جانوران و گیاهان شباهت‌هایی در مکانیسم‌های مولکولی تکوین خود دارند، که میراث منشأ تک‌سلولی مشترک آنها است.

در گیاهان و جانوران، هر دو، تکوین بستگی به آبشاری از فعال‌کننده‌های رونویسی دارد که ژن‌ها را به دقت روشن یا خاموش می‌کنند. برای مثال، مطالعه روی یک گیاه گل‌دار کوچک از خانوادهٔ خردل، به‌نام *آرابیدوپسیس تالیانا*[1] نشان داده است که ایجاد الگوی شعاعی قسمت‌های گل، همانند ایجاد محور سری - دمی در دروزوفیلا، نیاز به آبشاری از فاکتورهای رونویسی دارد. ژن‌هایی که این فرایندها را هدایت می‌کنند، به‌طور قابل ملاحظه‌ای در گیاهان و جانوران متفاوتند. درحالی‌که تعدادی از ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ اصلی در دروزوفیلا، ژن‌های هاکس حاوی هومئوباکس هستند، در آرابیدوپسیس این ژن‌ها مربوط به خانوادهٔ کاملاً متفاوتی به‌نام ژن‌های مدز - *باکس*[2] می‌باشند. با وجود اینکه ژن‌های حاوی هومئوباکس درگیاهان هم یافت می‌شوند و ژن‌های مدز- باکس در جانوران نیز وجود دارند، هیچ‌یک از این ژن‌ها، همان نقش اساسی را در تکوین در گروه مقابل انجام نمی‌دهند. بنابراین، شواهد مولکولی از این ایده حمایت می‌کند که برنامه‌های تکوینی در جانوران و گیاهان به‌طور جداگانه تکامل پیدا کرده‌اند.

در فصل آخر بخش ژنتیک، آموختید که چگونه مطالعهٔ ترکیب ژنومی و مقایسهٔ ژنوم گونه‌های مختلف، می‌تواند چگونگی تکامل ژنوم‌ها را مشخص کند. به‌علاوه، با مقایسهٔ برنامه‌های تکوینی می‌توانیم یگانگی حیات را در شباهت مکانیسم‌های مولکولی و سلولی دخیل در ایجاد الگوهای بدنی ببینیم، اگرچه ژن‌هایی که تکوین را کنترل می‌کنند ممکن است در جانداران متفاوت باشند. شباهت ژنوم‌ها، دودمان مشترک حیات را در زمین منعکس می‌کند. ولی تفاوت‌ها هم بسیار تعیین‌کننده‌اند زیرا تنوع عظیم جانداران تکامل‌یافته را ایجاد کرده‌اند. در ادامهٔ این کتاب، ما جنبه‌هایی فراتر از سطح مولکول‌ها، سلول‌ها و ژن‌ها را بررسی خواهیم کرد.

پرسش‌های مبحث ۶-۲۱

۱. انتظار دارید ژنوم میمون به ژنوم موش نزدیک‌تر باشد یا به ژنوم انسان؟ چرا؟

۲. توالی‌های DNAای که هومئوباکس نامیده می‌شوند و به ژن‌های هومئوتیک جانوران کمک می‌کنند تا تکوین را هدایت نمایند، در مگس‌ها و موش‌ها مشترکند. توضیح دهید، چرا با وجود این شباهت، این جانوران بسیار متفاوتند؟

۳. **چه می‌شد اگر؟** قطعات آلو در ژنوم انسان‌ها سه‌برابر بیشتر از ژنوم شامپانزه‌ها وجود دارند. فکر می‌کنید این قطعات آلو اضافی چگونه در انسان‌ها پدید آمده‌اند؟ یک نقش که ممکن است این قطعات در انشعاب این دو گونه ایفا کرده باشند، پیشنهاد دهید.

برای ملاحظهٔ پاسخ‌های پیشنهادی، به ضمیمهٔ A مراجعه کنید.

1- *Arabidopsis thaliana*
2- Mads- box

21 مرور فصل

خلاصهٔ مفاهیم کلیدی

۲۱-۱ راه‌کارهای جدید، توالی‌یابی ژنوم را سرعت بخشیده‌اند

- **پروژهٔ ژنوم انسان** در سال ۱۹۹۰ با یک روش سه مرحله‌ای آغاز شد. در **نقشهٔ پیوستگی**، ترتیب ژن‌ها و سایر نشانگرهای وراثتی در ژنوم و فاصلهٔ نسبی بین آنها، با استفاده از فراوانی‌های نوترکیبی تعیین می‌شود. سپس **نقشهٔ فیزیکی** از هم‌پوشانی قطعات DNA برای برقراری ترتیب این قطعات و تعیین فاصلهٔ آنها برحسب جفت‌باز استفاده می‌کند. در آخر، قطعات مرتب‌شده، توالی‌یابی می‌شوند و توالی کامل ژنومی تهیه می‌گردد.
- در روش شات‌گان، کل ژنوم به چندین قطعهٔ هم‌پوشان بسیار کوچک بریده شده و توالی‌یابی می‌شود. سپس نرم‌افزار کامپیوتری توالی کامل را سرهم‌بندی می‌کند. اگر اطلاعات نقشه‌یابی در دسترس باشد این سرهم‌کردن توالی‌ها آسان‌تر خواهد بود.

؟ چرا روش شات‌گان کل ژنوم اینقدر با پروژه‌های تعیین توالی جور است؟

۲۱-۲ دانشمندان از بیوانفورماتیک برای آنالیز ژنوم‌ها و عملکرد آنها استفاده می‌کنند

- وب‌سایت‌های اینترنتی، دسترسی متمرکز به پایگاه‌های دادهٔ توالی‌های ژنومی، ابزارهای آنالیزی و اطلاعات مرتبط به ژنوم را فراهم می‌کنند.
- آنالیز کامپیوتری توالی‌های ژنومی به محققان کمک می‌کند تا توالی‌های رمزکنندهٔ پروتئین را تشخیص دهند. مقایسهٔ توالی ژن‌های «جدید» با توالی ژن‌های شناخته‌شده در گونه‌های دیگر ممکن است به تشخیص عملکرد این ژن‌ها کمک کند. برای ژنی با فعالیت شناخته‌نشده، غیرفعال‌سازی آزمایشی آن و مشاهدهٔ اثرات فنوتیپی ایجادشده می‌تواند ایده‌هایی از عملکرد آن به‌دست دهد.
- دانشمندان با استفاده از ابزارهای کامپیوتری بیوانفورماتیک می‌توانند ژنوم‌ها را مقایسه کنند و مجموعهٔ ژن‌ها و پروتئین‌ها را به‌صورت سیستم‌های کامل مطالعه نمایند (**ژنومیکس و پروتئومیکس**). این مطالعات شامل آنالیز برهمکنش پروتئین‌ها در مقیاس وسیع هم می‌باشد.

؟ اصلی‌ترین و مهم‌ترین دستاورد پروژهٔ ENCODE راهبر چیست؟ چرا این پروژه برای سایر گونه‌ها نیز توسعه یافته است؟

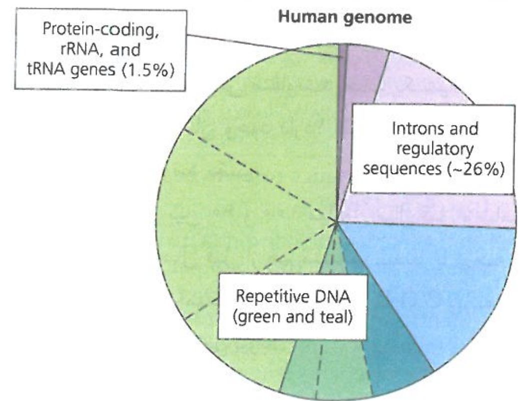
۲۱-۳ ژنوم‌ها از نظر اندازه، تعداد ژن‌ها و تراکم ژن‌ها با یکدیگر متفاوتند

	آرکی‌باکتری‌ها	باکتری‌ها	یوکاریوت‌ها
اندازهٔ ژنوم	بیشتر Mb ۶ – ۱ هستند		بیشتر Mb۴۰۰۰-۱۰، ولی تعداد کمی، بسیار بزرگتر هستند
تعداد ژن‌ها	۱۵۰۰ - ۷۵۰۰		۵۰۰۰ – ۴۰۰۰۰
تراکم ژن	بیشتر از یوکاریوت‌ها		کم‌تر از پروکاریوت‌ها (در یوکاریوت‌ها تراکم کم‌تر با ژنوم بزرگتر ارتباط دارد)
اینترون‌ها	در بعضی ژن‌ها وجود دارد	در ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین وجود ندارد	یوکاریوت‌های تک‌سلولی: وجود دارد ولی تنها در چند گونه شایع است یوکاریوت‌های پرسلولی: در بیشتر ژن‌ها وجود دارد
سایر DNA غیررمزگذار	بسیار کم		می‌تواند مقادیر زیادی داشته باشد، عموماً DNA غیررمزگذار تکراری بیشتری در یوکاریوت‌های پرسلولی وجود دارد

؟ اندازهٔ ژنوم، تعداد ژن و تراکم ژن را در (a) حوزه‌های سه‌گانهٔ فوق و (b) در میان یوکاریوت‌ها مقایسه کنید.

۲۱-۴ یوکاریوت‌های پرسلولی، DNA غیررمزگذار و خانواده‌های چندژنی زیادی دارند

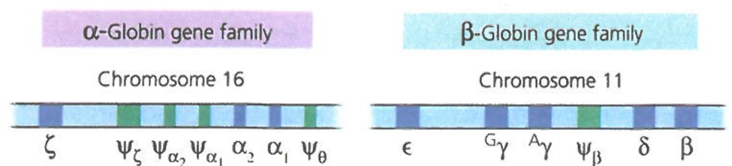
- فقط ۱/۵٪ از ژنوم انسان پروتئین رمز می‌کند یا به rRNA یا tRNA رونویسی می‌شود. بقیه، DNA غیررمزگذار است که شامل **DNA تکراری** و **ژن‌های کاذب** می‌باشد.



○ بیشتر DNA تکراری در یوکاریوت‌های پرسلولی از **قطعات قابل جابه‌جایی** و توالی‌های مرتبط تشکیل شده است. دو نوع قطعات قابل جابه‌جایی در یوکاریوت‌ها وجود دارند: **ترانسپوزون‌ها**، که با واسطه‌های از نوع DNA حرکت می‌کنند و **رتروترانسپوزون‌ها**، که شایع‌ترند و به‌وسیلهٔ واسطه‌های RNA قادر به حرکتند. هر قطعه ممکن است صدها یا هزاران جفت‌باز طول داشته و دارای کپی‌های مشابه و اکثراً غیربرابر باشد که در سراسر ژنوم پخش شده‌اند.

○ سایر DNAهای تکراری، شامل **DNA با توالی ساده** است، توالی‌های کوتاه غیررمزگذاری که به‌طور متوالی هزاران بار تکرار شده است (DNA با توالی ساده که شامل STRs هم می‌باشد)؛ مخصوصاً در سانترومرها و تلومرها بارزتر است و احتمالاً دارای نقش ساختاری در کروموزوم‌ها می‌باشد.

○ با اینکه بسیاری از ژن‌های یوکاریوتی فقط یک کپی در هر مجموعهٔ هاپلوئید کروموزومی دارند، بعضی دیگر (در بعضی گونه‌ها)، اعضای خانواده‌های مرتبط می‌باشند.



> **?** توضیح دهید که عملکرد عناصر ترانسپوزونی چگونه ممکن است مسئول شیوعشان در DNA غیر رمزگردان انسان باشد؟

۵-۲۱ مضاعف‌شدگی، بازآرایی و جهش DNA، به تکامل ژنوم کمک می‌کنند

○ تصادفاتی که در طول تقسیم سلولی می‌افتند، می‌توانند منجر به ایجاد کپی‌های اضافی از تمام یا قسمتی از ژنوم شوند.

○ ساختار کروموزومی ژنوم، می‌تواند در گونه‌های مختلف مورد مقایسه قرار بگیرد و اطلاعاتی دربارهٔ ارتباطات تکاملی ارائه دهد. در یک گونه، بازآرایی کروموزوم‌ها ممکن است به انشعاب گونه‌های جدید کمک کند.

○ DNAی ژن‌های رمزکنندهٔ پروتئین‌های گلوبین از یک ژن گلوبینی اجدادی مشترک، تکامل پیدا کردند. این ژن مضاعف شد و به ژن‌های اجدادی α- گلوبین و β- گلوبین انشعاب پیدا کرد. مضاعف‌شدگی‌های بعدی و جهش‌های تصادفی، ژن‌های گلوبین کنونی را ایجاد کردند که همگی پروتئین‌های حمل‌کنندهٔ اکسیژن را رمز می‌کنند. کپی‌های برخی از ژن‌های مضاعف‌شده آن‌قدر انشعاب پیدا کرده‌اند که عملکرد پروتئینی آنها کاملاً متفاوت از قبل شده است.

○ بازآرایی اگزون‌ها درون و بین ژن‌ها، در طول تکامل باعث ایجاد ژن‌هایی با کپی‌های متعدد از اگزون‌های مشابه و یا چندین اگزون متفاوت مشتق‌شده از سایر ژن‌ها، شده است.

○ حرکت قطعات قابل جابه‌جایی یا نوترکیبی بین کپی‌های یک قطعه، گاهی توالی‌های جدیدی ایجاد می‌کند که برای جاندار سودمند هستند. چنین مکانیسم‌هایی می‌توانند عملکرد ژن‌ها یا الگوی بیان و تنظیم آنها را تغییر دهند.

> **?** بازآرایی‌های کروموزومی چگونه می‌توانند باعث ایجاد گونه‌های جدید شوند؟

۶-۲۱ مقایسهٔ توالی‌های ژنومی، سرنخ‌هایی از تکامل و تکوین به‌دست می‌دهد

○ مطالعات مقایسه‌ای ژنوم گونه‌هایی با خویشاوندی دور و نزدیک، اطلاعات متنوعی دربارهٔ تاریخچهٔ تکامل دور و نزدیک ارائه می‌کند. در توالی ژنومی انسان و شامپانزه حدود ٪۴ تفاوت وجود دارد که اکثراً ناشی از اضافه شدن‌ها، حذف‌ها و مضاعف‌شدگی‌ها در یک رده است. علاوه بر اختلافات نوکلئوتیدی در ژن‌های خاص (مانند *FOXP2*، ژن مؤثر در گفتار)، این تفاوت‌ها ممکن است مسئول ویژگی‌های بسیار متفاوت این دو گونه باشند. پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی نیز در افراد یک گونه، اطلاعاتی دربارهٔ تاریخچهٔ آن گونه به‌دست می‌دهد.

○ ژن‌های هومئوتیک و بعضی ژن‌های دیگر مرتبط به نمو جانوران حاوی یک منطقهٔ هومئوباکس هستند که توالی‌اش در گونه‌های مختلف و متفاوت یکسان یا مشابه است. توالی‌های مرتبطی در ژن‌های گیاهان و مخمرها وجود دارند. ژن‌های تکوینی دیگری هم، به شدت در بین گونه‌های جانوری حفظ شده‌اند، ولی ممکن است نقش‌های مختلفی در تکوین گونه‌های مختلف داشته باشند. در طول تکوین جنینی گیاهان و جانوران، هر دو، آبشاری از تنظیم‌کننده‌های رونویسی، ژن‌ها را با دقت بسیار، روشن یا خاموش می‌کنند. ژن‌هایی که فرایندهای تکوینی همتا را هدایت می‌کنند، به‌طور قابل ملاحظه‌ای در گیاهان و جانوران متفاوتند که نتیجهٔ انشعاب بسیار دور این دو دودمان است.

> **?** چه نوع اطلاعاتی به‌وسیله مقایسهٔ ژنوم گونه‌های بسیار خویشاوند قابل برداشت است؟ از مقایسهٔ ژنوم گونه‌های بسیار دور از هم چطور؟

خود را بیازمایید

با مراجعه به سایت **www.masteringbiology.com** *به سؤالات چندگزینه‌ای ۱ تا ۴ پاسخ دهید.*

۵- رسم کنید در قسمت پایین، توالی آمینواسیدی (با استفاده از کد تک حرفی؛ شکل ۱۶-۵ را ببینید) چهار قطعهٔ کوتاه از پروتئین FOXP2 مربوط به شش گونه، آورده شده است: شامپانزه، اورانگوتان، گوریل، میمون رزوس، موش و انسان. این قطعات حاوی تمام تفاوت‌های آمینواسیدی پروتئینی FOXP2 در این شش گونه هستند.

۱) ATETI ... PKSSD ... TSSTT ... NARRD
۲) ATETI ... PKSSE ... TSSTT ... NARRD
۳) ATETI ... PKSSD ... TSSTT ... NARRD
۴) ATETI ... PKSSD ... TSSNT ... SARRD
۵) ATETI ... PKSSD ... TSSTT ... NARRD
۶) VTETI ... PKSSD ... TSSTT ... NARRD

از یک ماژیک برای مشخص کردن تمام آمینواسیدهایی که در این گونه‌ها متفاوتند، استفاده کنید. (آن آمینواسید را در تمام گونه‌ها رنگی کنید.) سپس به سؤالات زیر پاسخ دهید.

الف) توالی‌های شامپانزه، گوریل و میمون رزوس (C,G,R) یکسان هستند. کدام شماره‌ها به این توالی‌ها مربوط‌اند؟

ب) توالی انسان در دو آمینواسید با توالی‌های G,G,R متفاوت است. کدام شماره مربوط به توالی انسان است؟ زیر این دو تفاوت خط بکشید.

ج) توالی اورانگوتان در یک آمینواسید با توالی C,G,R متفاوت است (به جای آلانین، والین دارد) و با توالی انسان در سه آمینواسید متفاوت می‌باشد. کدام شماره مربوط به اورانگوتان است؟

د) چند تفاوت آمینواسیدی بین موش و گونه‌های C,G,R وجود دارند؟ دور آمینواسیدهایی که در موش متفاوتند خط بکشید. چند تفاوت آمینواسیدی بین موش و انسان وجود دارد؟ یک مربع دور آمینواسیدهایی که در موش با انسان متفاوتند بکشید.

هـ) پریمات‌ها و جوندگان بین ۶۰ و ۱۰۰ میلیون سال قبل و شامپانزه‌ها و انسان‌ها حدود ۶ میلیون سال قبل از هم منشعب شدند. با توجه به این نکته، از مقایسهٔ تفاوت‌های آمینواسیدی موش و C,G,R با تفاوت‌های انسان و C,G,R چه نتیجه‌ای می‌گیرید؟

۶- ارتباط تکاملی

ژن‌های با اهمیت در تکوین جنینی، مانند ژن‌های حاوی هومئوباکس، نسبتاً در طول تکامل، به خوبی حفظ شده‌اند؛ یعنی نسبت به بسیاری ژن‌های دیگر، در گونه‌های مختلف، شباهت بیشتری دارند. چرا؟

۷- تحقیق علمی

دانشمندانی که SNPهای موجود در ژنوم انسان را نقشه‌برداری می‌کنند، متوجه شدند که گروه‌های SNP تمایل دارند در بلوک‌هایی به‌نام هاپلوتایپ که طولی بین ۵۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ جفت‌باز دارند، به ارث برسند. فقط چهار یا پنج ترکیب محتمل در SNPها در هر هاپلوتایپ وجود دارد. یک توضیح برای این مشاهدات پیشنهاد دهید.

۸- دربارهٔ موضوع مطرح شده در زیر توضیح دهید

اساس ژنتیکی حیات. ادامهٔ حیات به اطلاعات قابل توارث به‌شکل DNA بستگی دارد. در یک متن کوتاه (۱۰۰ تا ۱۵۰ کلمه)، توضیح دهید که جهش در ژن‌های رمزگردان پروتئین و DNA تنظیم کننده چگونه در تکامل دخیل هستند.

The functions of the remainder are not yet known. **4.** Genome-wide association studies use the systems biology approach in that they consider the correlation of many single nucleotide polymorphisms (SNPs) with particular diseases, such as heart disease and diabetes, in an attempt to find patterns of SNPs that correlate with each disease.

Concept Check 21.3

1. Alternative splicing of RNA transcripts from a gene and post-translational processing of polypeptides **2.** The total number of completed genomes is found by clicking on "Published Complete Genomes." Add the figures for bacterial, archaeal, and eukaryotic "ongoing genomes" to get the number "in progress." Finally, look at the top of the Published Complete Genomes page to get numbers of completed genomes for each domain. (*Note:* You can click on the "Size" column and the table will be resorted by genome size. Scroll down to get an idea of relative sizes of genomes in the three domains. Remember, though, that most of the sequenced genomes are bacterial.) **3.** Prokaryotes are generally smaller cells than eukaryotic cells, and they reproduce by binary fission. The evolutionary process involved is natural selection for more quickly reproducing cells: The faster they can replicate their DNA and divide, the more likely they will be able to dominate a population of prokaryotes. The less DNA they have to replicate, then, the faster they will reproduce.

Concept Check 21.4

1. The number of genes is higher in mammals, and the amount of noncoding DNA is greater. Also, the presence of introns in mammalian genes makes them larger, on average, than prokaryotic genes. **2.** In the copy-and-paste transposon mechanism and in retrotransposition **3.** In the rRNA gene family, identical transcription units for the three different RNA products are present in long, tandemly repeated arrays. The large number of copies of the rRNA genes enable organisms to produce the rRNA for enough ribosomes to carry out active protein synthesis, and the single transcription unit ensures that the relative amounts of the different rRNA molecules produced are correct. Each globin gene family consists of a relatively small number of nonidentical genes. The differences in the globin proteins encoded by these genes result in production of hemoglobin molecules adapted to particular developmental stages of the organism. **4.** The exons would be classified as exons (1.5%); the enhancer region containing the distal control elements, the region closer to the promoter containing the proximal control elements, and the promoter itself would be classified as regulatory sequences (5%); and the introns would be classified as introns (20%).

Concept Check 21.5

1. If meiosis is faulty, two copies of the entire genome can end up in a single cell. Errors in crossing over during meiosis can lead to one segment being duplicated while another is deleted. During DNA replication, slippage backward along the template strand can result in segment duplication. **2.** For either gene, a mistake in crossing over during meiosis could have occurred between the two copies of that gene, such that one ended up with a duplicated exon. This could have happened several times, resulting in the multiple copies of a particular exon in each gene. **3.** Homologous transposable elements scattered throughout the genome provide sites where recombination can occur between different chromosomes. Movement of these elements into coding or regulatory sequences may change expression of genes. Transposable elements also can carry genes with them, leading to dispersion of genes and in some cases different patterns of expression. Transport of an exon during transposition and its insertion into a gene may add a new functional domain to the originally encoded protein, a type of exon shuffling. (For any of these changes to be heritable, they must happen in germ cells, cells that will give rise to gametes.) **4.** Because more offspring are born to women who have this inversion, it must provide some advantage. It would be expected to persist and spread in the population. (In fact, evidence in the study allowed the researchers to conclude that it has been increasing in proportion in the population. You'll learn more about population genetics in the next unit.)

Concept Check 21.6

1. Because both humans and macaques are primates, their genomes are expected to be more similar than the macaque and mouse genomes are. The mouse lineage diverged from the primate lineage before the human and macaque lineages diverged. **2.** Homeotic genes differ in their *non*homeobox sequences, which determine the interactions of homeotic gene products with other transcription factors and hence which genes are regulated by the homeotic genes. These nonhomeobox sequences differ in the two organisms, as do the expression patterns of the homeobox genes. **3.** *Alu* elements must have undergone transposition more actively in the human genome for some reason. Their increased numbers may have then allowed more recombination errors in the human genome, resulting in more or different duplications. The divergence of the organization and content of the two genomes presumably made the chromosomes of each genome less homologous to those of the other, thus accelerating divergence of the two species by making matings less and less likely to result in fertile offspring.

Summary of Key Concepts Questions

21.1 Considering the sequencing of the human genome as an example, less time was required to sequence the first human genome using the whole-genome shotgun approach. Although this approach relied in part on data resulting from the three-stage approach used by the public consortium, the whole-genome shotgun approach was (and still is) faster and more efficient than the more labor-intensive three-stage process. The whole-genome shotgun approach was facilitated in large part by significant advances in computing power. **21.2** The most significant finding was that more than 90% of the human genomic region studied was transcribed, which suggested that the transcribed RNA (and thus the DNA from which it was produced) was performing some unknown functions. The project has been expanded to include other species because to determine the functions of these transcribed DNA elements, it is necessary to carry out this type of analysis on the genomes of species that can be used in laboratory experiments. **21.3** (a) In general, bacteria and archaea have smaller genomes, lower numbers of genes, and higher gene density than eukaryotes. (b) Among eukaryotes, there is no apparent systematic relationship between genome size and phenotype. The number of genes is often lower than would be expected from the size of the genome—in other words, the gene density is often lower in larger genomes. (Humans are an example.) **21.4** Transposable element-related sequences can move from place to place in the genome, and a subset of these sequences make a new copy of themselves when they do so. Thus, it is not surprising that they make up a significant percentage of the genome, and this percentage might be expected to increase over evolutionary time. **21.5** Chromosomal rearrangements within a species lead to some individuals having different chromosomal arrangements. Each of these individuals could still undergo meiosis and produce gametes, and fertilization involving gametes with different chromosomal arrangements could result in viable offspring. However, during meiosis in the offspring, the maternal and paternal chromosomes might not be able to pair up, causing gametes with incomplete sets of chromosomes to form. Most often, when zygotes are produced from such gametes, they do not survive. Ultimately, a new species could form if two different chromosomal arrangements became prevalent within a population and individuals could mate successfully only with other individuals having the same arrangement. **21.6** Comparing the genomes of two closely related species can reveal information about more recent evolutionary events, perhaps events that resulted in the distinguishing characteristics of the two species. Comparing the genomes of very distantly related species can tell us about evolutionary events that occurred a very long time ago. For example, genes that are shared between two distantly related species must have arisen before the two species diverged.

Test Your Understanding

5.

1. ATETI...PKSSD...TSSTT...NARRD
2. ATETI...PKSSE...TSSTT...NARRD
3. ATETI...PKSSD...TSSTT...NARRD
4. ATETI...PKSSD...TSSNT...SARRD
5. ATETI...PKSSD...TSSTT...NARRD
6. VTETI...PKSSD...TSSTT...NARRD

(a) Lines 1, 3, and 5 are the C, G, R species. (b) Line 4 is the human sequence. (c) Line 6 is the orangutan sequence. (d) There is one amino acid difference between the mouse (the E on line 2) and the C, G, R species (which have a D in that position). There are three amino acid differences between the mouse and the human. (The E, T, and N in the mouse sequence are instead D, N, and S, respectively, in the human sequence.) (e) Because only one amino acid difference arose during the 60–100 million years since the mouse and C, G, R species diverged, it is somewhat surprising that two additional amino acid differences resulted during the 6 million years since chimpanzees and humans diverged. This indicates that the *FOXP2* gene has been evolving faster in the human lineage than in the lineages of other primates.

differences in their environments 3. A technique would have to be worked out for turning a human iPS cell into a pancreatic cell (probably by inducing expression of pancreas-specific regulatory genes in the cell). 4. The carrot cell has much more potential. The cloning experiment shows that an individual carrot cell can generate all the tissues of an adult plant. The muscle cell, on the other hand, will always remain a muscle cell because of its genetic program (it expresses the *myoD* gene, which ensures continued differentiation). The muscle cell is like other fully differentiated animal cells: It will remain fully differentiated on its own unless it is reprogrammed into an iPS cell using the new techniques described here. (This would be quite difficult to accomplish because a muscle cell has multiple nuclei.)

Concept Check 20.4

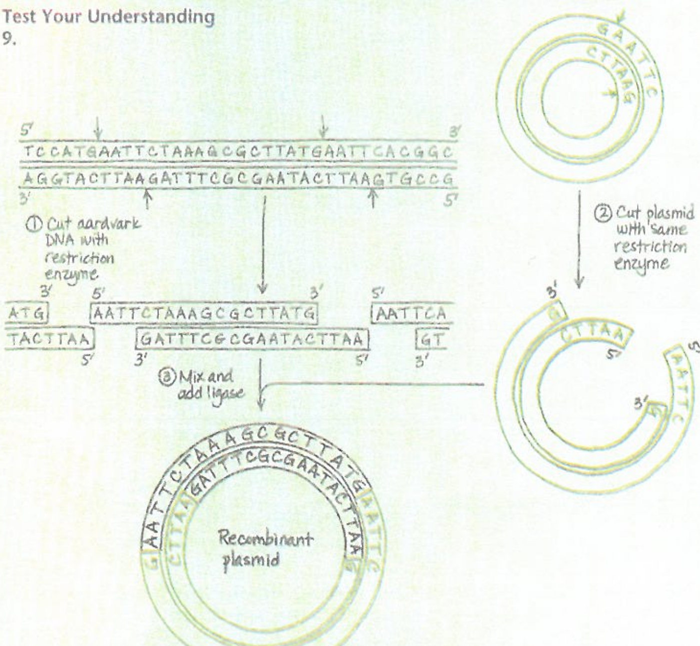
1. Stem cells continue to reproduce themselves. 2. Herbicide resistance, pest resistance, disease resistance, salinity resistance, and delayed ripening 3. Because hepatitis A is an RNA virus, you could isolate RNA from the blood and try to detect copies of hepatitis A RNA by one of three methods. First, you could run the RNA on a gel and then do a Northern blot using probes complementary to hepatitis A genome sequences. A second approach would be to use reverse transcriptase to make cDNA from the RNA in the blood, run the cDNA on a gel, and do a Southern blot using the same probe. However, neither of these methods would be as sensitive as RT-PCR, in which you would reverse-transcribe the blood RNA into cDNA and then use PCR to amplify the cDNA, using primers specific to hepatitis A sequences. If you then ran the products on an electrophoretic gel, the presence of a band would support your hypothesis.

Summary of Key Concepts Questions

20.1 A plasmid vector and a source of foreign DNA to be cloned are both cut with the same restriction enzyme, generating restriction fragments with sticky ends. These fragments are mixed together, ligated, and reintroduced into bacterial cells, which are then grown on the antibiotic ampicillin. The plasmid has two genes that allow selection of recombinant clones. The first is a gene for ampicillin resistance, which only allows cells to grow if they have taken up a plasmid. The second is a gene for β-galactosidase, which can generate a blue product if the gene is intact. The cloning site is within this gene, so only nonrecombinant colonies will be blue, and recombinant plasmids will be found in cells that are in white colonies. **20.2** Many techniques used to analyze genes and their expression involve nucleic acid hybridization: Southern and Northern blotting, DNA sequencing, PCR, *in situ* hybridization, and DNA microarray analysis. The base pairing between the two strands of a DNA molecule or between a DNA strand and an RNA strand is the key to finding specific nucleic acid sequences in all of these techniques. **20.3** Cloning a mouse involves transplanting a nucleus from a differentiated mouse cell into a mouse egg cell that has had its own nucleus removed. Fertilizing the egg cell and promoting its development into an embryo in a surrogate mother results in a mouse that is genetically identical to the mouse that donated the nucleus. In this case, the differentiated nucleus has been reprogrammed by factors in the egg cytoplasm. Mouse ES cells are generated from inner cells in mouse blastocysts, so in this case the cells are "naturally" reprogrammed by the process of reproduction and development. (Cloned mouse embryos can also be used as a source of ES cells.) iPS cells can be generated without the use of embryos from a differentiated adult mouse cell, by adding certain transcription factors into the cell. In this case, the transcription factors are reprogramming the cells to become pluripotent. **20.4** First, the disease must be caused by a single gene, and the molecular basis of the problem must be understood. Second, the cells that are going to be introduced into the patient must be cells that will integrate into body tissues and continue to multiply (and provide the needed gene product). Third, the gene must be able to be introduced into the cells in question in a safe way, as there have been instances of cancer resulting from some gene therapy trials. (Note that this will require testing the procedure in mice; moreover, the factors that determine a safe vector are not yet well understood. Maybe one of you will go on to solve this problem!)

Test Your Understanding

9.



10. A cDNA library, made using mRNA from human lens cells, which would be expected to contain many copies of mRNA for the crystallin of interest

Chapter 21

Figure Questions

Figure 21.3 The fragments in stage 2 of this figure are like those in stage 2 of Figure 21.2, but in this figure their order relative to each other is not known and will be determined later by computer. The order of the fragments in Figure 21.2 is completely known before sequencing begins. (Determining the order takes longer but makes the eventual sequence assembly much easier.) **Figure 21.9** The transposon would be cut out of the DNA at the original site rather than copied, so the figure would show the original stretch of DNA without the transposon after the mobile transposon had been cut out. **Figure 21.11** The RNA transcripts extending from the DNA in each transcription unit are shorter on the left and longer on the right. This means that RNA polymerase must be starting on the left end of the unit and moving toward the right.

Figure 21.13

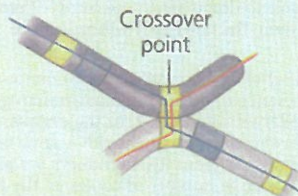


Figure 21.14 Pseudogenes are nonfunctional. They could have arisen by any mutations in the second copy that made the gene product unable to function. Examples would be base changes that introduce stop codons in the sequence, alter amino acids, or change a region of the gene promoter so that the gene can no longer be expressed. **Figure 21.15** Let's say a transposable element (TE) existed in the intron to the left of the indicated EGF exon in the EGF gene, and the same TE was present in the intron to the right of the indicated F exon in the fibronectin gene. During meiotic recombination, these TEs could cause nonsister chromatids on homologous chromosomes to pair up incorrectly, as seen in Figure 21.13. One gene might end up with an F exon next to an EGF exon. Further mistakes in pairing over many generations might result in these two exons being separated from the rest of the gene and placed next to a single or duplicated K exon. In general, the presence of repeated sequences in introns and between genes facilitates these processes because it allows incorrect pairing of nonsister chromatids, leading to novel exon combinations. **Figure 21.17** Since you know that chimpanzees do not speak but humans do, you'd probably want to know how many amino acid differences there are between the human wild-type FOXP2 protein and that of the chimpanzee and whether these changes affect the function of the protein. (As we explain later in the text, there are two amino acid differences.) You know that humans with mutations in this gene have severe language impairment. You would want to learn more about the human mutations by checking whether they affect the same amino acids in the gene product that the chimpanzee sequence differences affect. If so, those amino acids might play an important role in the function of the protein in language. Going further, you could analyze the differences between the chimpanzee and mouse FOXP2 proteins. You might ask: Are they more similar than the chimpanzee and human proteins? (It turns out that the chimpanzee and mouse proteins have only one amino acid difference and thus are more similar than the chimpanzee and human proteins, which have two differences, and more similar than the human and mouse proteins, which have three differences.)

Concept Check 21.1

1. In a linkage map, genes and other markers are ordered with respect to each other, but only the relative distances between them are known. In a physical map the actual distances between markers, expressed in base pairs, are known. 2. The three-stage approach employed in the Human Genome Project involves linkage mapping, physical mapping, and then sequencing of short, overlapping fragments that previously have been ordered relative to each other (see Figure 21.2). The whole-genome shotgun approach eliminates the linkage mapping and physical mapping stages; instead, short fragments generated by multiple restriction enzymes are sequenced and then ordered by computer programs that identify overlapping regions (see Figure 21.3).

Concept Check 21.2

1. The Internet allows centralization of databases such as GenBank and software resources such as BLAST, making them freely accessible. Having all the data in a central database, easily accessible on the Internet, minimizes the possibility of errors and of researchers working with different data. It streamlines the process of science since all researchers are able to use the same software programs, rather than each having to obtain their own, possibly different, software. It speeds up dissemination of data and ensures as much as possible that errors are corrected in a timely fashion. These are just a few answers; you can probably think of more. 2. Cancer is a disease caused by multiple factors. To focus on a single gene or a single defect would ignore other factors that may influence the cancer and even the behavior of the single gene being studied. The systems approach, because it takes into account many factors at the same time, is more likely to lead to an understanding of the causes and most useful treatments for cancer. 3. Some of the transcribed region is accounted for by introns. The rest is transcribed into noncoding RNAs, including small RNAs, such as microRNAs (miRNAs). These RNAs help regulate gene expression by blocking translation, causing degradation of mRNA, binding to the promoter and repressing transcription, or causing remodeling of chromatin structure.

Hershey and Chase concluded that the DNA must carry the genetic information necessary for the phage to reprogram the cell and produce progeny phages.

Concept Check 19.2

1. Lytic phages can only carry out lysis of the host cell, whereas lysogenic phages may either lyse the host cell or integrate into the host chromosome. In the latter case, the viral DNA (prophage) is simply replicated along with the host chromosome. Under certain conditions, a prophage may exit the host chromosome and initiate a lytic cycle. 2. Both the viral RNA polymerase and the RNA polymerase in Figure 17.9 synthesize an RNA molecule complementary to a template strand. However, the RNA polymerase in Figure 17.9 uses one of the strands of the DNA double helix as a template, whereas the viral RNA polymerase uses the RNA of the viral genome as a template. 3. Because it synthesizes DNA from its RNA genome. This is the reverse ("retro") of the usual DNA → RNA information flow. 4. There are many steps that could be interfered with: binding of the virus to the cell, reverse transcriptase function, integration into the host cell chromosome, genome synthesis (in this case, transcription of RNA from the integrated provirus), assembly of the virus inside the cell, and budding of the virus. (Many of these, if not all, are targets of actual medical strategies to block progress of the infection in HIV-infected people.)

Concept Check 19.3

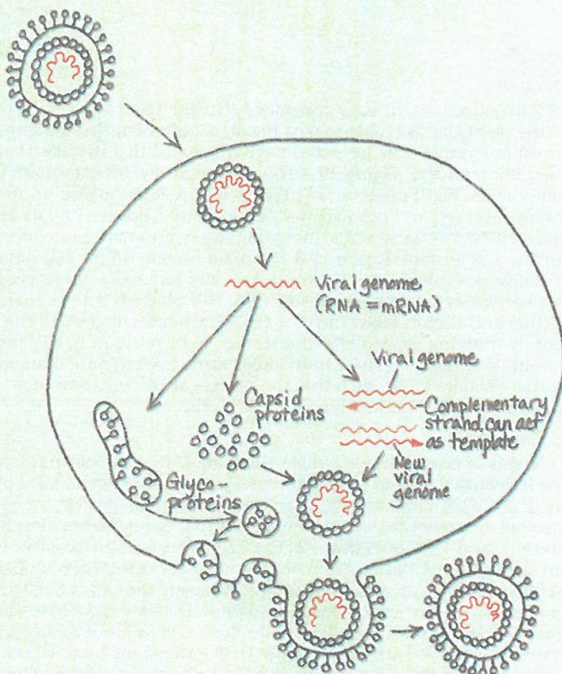
1. Mutations can lead to a new strain of a virus that can no longer be effectively fought by the immune system, even if an animal had been exposed to the original strain; a virus can jump from one species to a new host; and a rare virus can spread if a host population becomes less isolated. 2. In horizontal transmission, a plant is infected from an external source of virus, which could enter through a break in the plant's epidermis due to damage by herbivores. In vertical transmission, a plant inherits viruses from its parent either via infected seeds (sexual reproduction) or via an infected cutting (asexual reproduction). 3. Humans are not within the host range of TMV, so they can't be infected by the virus.

Summary of Key Concepts Questions

19.1 Viruses are generally considered nonliving, because they are not capable of replicating outside of a host cell. To replicate, they depend completely on host enzymes and resources. 19.2 Single-stranded RNA viruses require an RNA polymerase that can make RNA using an RNA template. (Cellular RNA polymerases make RNA using a DNA template.) Retroviruses require reverse transcriptases to make DNA using an RNA template. (Once the first DNA strand has been made, the same enzyme can promote synthesis of the second DNA strand.) 19.3 The mutation rate of RNA viruses is higher than that of DNA viruses because RNA polymerase has no proofreading function, so errors in replication are not corrected. Their higher mutation rate means that RNA viruses change faster than DNA viruses, leading to their being able to have an altered host range and to evade immune defenses in possible hosts.

Test Your Understanding

6. As shown below, the viral genome would be translated into capsid proteins and envelope glycoproteins directly, rather than after a complementary RNA copy was made. A complementary RNA strand would still be made, however, that could be used as a template for many new copies of the viral genome.



Chapter 20

Figure Questions

Figure 20.3

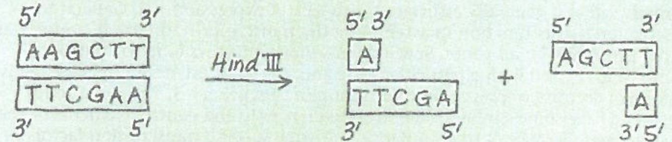
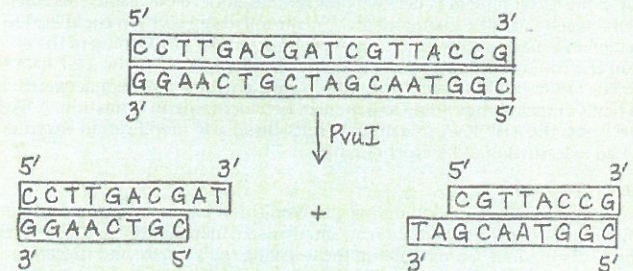


Figure 20.4 Cells containing no plasmid at all would be able to grow; these colonies would be white because they would lack functional *lacZ* genes. **Figure 20.10** Grow each clone of cells in culture. Isolate the plasmids from each and cut them with the restriction enzyme originally used to make the clone (see Figure 20.4). Run each sample on an electrophoretic gel, and recover the DNA of the insert from the gel band. **Figure 20.16** Crossing over, which causes recombination, is a random event. The chance of crossing over occurring between two loci increases as the distance between them increases. The SNP is located very close to an unknown disease-causing allele, and therefore crossing over rarely occurs between the SNP and the allele, so the SNP is a genetic marker indicating the presence of the particular allele. **Figure 20.18** None of the eggs with the transplanted nuclei from the four-cell embryo at the upper left would have developed into a tadpole. Also, the result might include only some of the tissues of a tadpole, which might differ, depending on which nucleus was transplanted. (This assumes that there was some way to tell the four cells apart, as one can in some frog species.) **Figure 20.22** Using converted iPS cells would not carry the same risk, which is its major advantage. Because the donor cells would come from the patient, they would be perfectly matched. The patient's immune system would recognize them as "self" cells and would not mount an attack (which is what leads to rejection).

Concept Check 20.1

1. The covalent sugar-phosphate bonds of the DNA strands 2. Yes, *PvuI* will cut the molecule.



3. Some human genes are too large to be incorporated into bacterial plasmids. Bacterial cells lack the means to process RNA transcripts into mRNA, and even if the need for RNA processing is avoided by using cDNA, bacteria lack enzymes to catalyze the post-translational processing that many human proteins require to function properly. 4. During the replication of the ends of linear DNA molecules (see Figure 16.20), an RNA primer is used at the 5′ end of each new strand. The RNA must be replaced by DNA nucleotides, but DNA polymerase is incapable of starting from scratch at the 5′ end of a new DNA strand. During PCR, the primers are made of DNA nucleotides already, so they don't need to be replaced—they just remain as part of each new strand. Therefore, there is no problem with end replication during PCR, and the fragments don't shorten with each replication.

Concept Check 20.2

1. Any restriction enzyme will cut genomic DNA in many places, generating such a large number of fragments that they would appear as a smear rather than distinct bands when the gel is stained after electrophoresis. 2. In Southern blotting, Northern blotting, and microarray analysis, the labeled probe binds only to the specific target sequence owing to complementary nucleic acid hybridization (DNA-DNA hybridization in Southern blotting and microarray analysis, DNA-RNA hybridization in Northern blotting). In DNA sequencing, primers base-pair to the template, allowing DNA synthesis to start. In RT-PCR, the primers must base-pair with their target sequences in the DNA mixture. 3. A SNP is a single nucleotide that varies in the population, existing in two or more variations. A RFLP is a type of SNP that occurs in a restriction site, leading to a difference in restriction fragment length when cutting two variants with a restriction enzyme. 4. If a spot is green, the gene represented on that spot is expressed only in normal tissue. If red, the gene is expressed only in cancerous tissue. If yellow, the gene is expressed in both. And if black, the gene is expressed in neither type of tissue. As a researcher interested in cancer development, you would want to study genes represented by spots that are green or red because these are genes for which the expression level differs between the two types of tissues. Some of these genes may be expressed differently as a result of cancer, but others might play a role in causing cancer.

Concept Check 20.3

1. The state of chromatin modification in the nucleus from the intestinal cell was undoubtedly less similar to that of a nucleus from a fertilized egg, explaining why many fewer of these nuclei were able to be reprogrammed. In contrast, the chromatin in a nucleus from a cell at the four-cell stage would have been much more like that of a nucleus in a fertilized egg and therefore much more easily programmed to direct development. 2. No, primarily because of subtle (and perhaps not so subtle)

produce β-galactosidase and the two other enzymes for lactose utilization, even in the absence of lactose, thus wasting cell resources.

Concept Check 18.2

1. Histone acetylation is generally associated with gene expression, while DNA methylation is generally associated with lack of expression. 2. General transcription factors function in assembling the transcription initiation complex at the promoters for all genes. Specific transcription factors bind to control elements associated with a particular gene and, once bound, either increase (activators) or decrease (repressors) transcription of that gene. 3. The three genes should have some similar or identical sequences in the control elements of their enhancers. Because of this similarity, the same specific transcription factors in muscle cells could bind to the enhancers of all three genes and stimulate their expression coordinately. 4. Degradation of the mRNA, regulation of translation, activation of the protein (by chemical modification, for example), and protein degradation 5. Expression of the gene encoding the yellow activator (YA) must be regulated at one of the steps shown in Figure 18.6. The YA gene might be transcribed only in liver cells because the necessary activators for the enhancer of the YA gene are found only in liver cells.

Concept Check 18.3

1. Both miRNAs and siRNAs are small, single-stranded RNAs that associate with a complex of proteins and then can base-pair with mRNAs that have a complementary sequence. This base pairing leads to either degradation of the mRNA or blockage of its translation. Some siRNAs, in association with other proteins, can bind back to the chromatin in a certain region, causing chromatin changes that affect transcription. Both miRNAs and siRNAs are processed from double-stranded RNA precursors by the enzyme Dicer. All miRNAs are specified by genes in the cell's genome, and the single transcript folds back on itself to form one or more double-stranded hairpins, each of which is processed into an miRNA. In contrast, siRNAs arise from a longer stretch of linear double-stranded RNA, which may be introduced into the cell by a virus or an experimenter. Alternatively, in some cases, a cellular gene specifies one RNA strand of the precursor molecule, and an enzyme then synthesizes the complementary strand. 2. The mRNA would persist and be translated into the cell division–promoting protein, and the cell would probably divide. If the intact miRNA is necessary for inhibition of cell division, then division of this cell might be inappropriate. Uncontrolled cell division could lead to formation of a mass of cells (tumor) that prevents proper functioning of the organism and could contribute to the development of cancer. 3. The *XIST* RNA is transcribed from the *XIST* gene on the X chromosome that will be inactivated. It then binds to that chromosome and induces heterochromatin formation. A likely model is that the *XIST* RNA somehow recruits chromatin modification enzymes that lead to formation of heterochromatin.

Concept Check 18.4

1. Cells undergo differentiation during embryonic development, becoming different from each other; in the adult organism, there are many highly specialized cell types. 2. By binding to a receptor on the receiving cell's surface and triggering a signal transduction pathway, involving intracellular molecules such as second messengers and transcription factors that affect gene expression 3. Because their products, made and deposited into the egg by the mother, determine the head and tail ends, as well as the back and belly, of the embryo (and eventually the adult fly) 4. The lower cell is synthesizing signaling molecules because the gene encoding them is activated, meaning that the appropriate specific transcription factors are binding to the gene's enhancer. The genes encoding these specific transcription factors are also being expressed in this cell because the transcriptional activators that can turn them on were expressed in the precursor to this cell. A similar explanation also applies to the cells expressing the receptor proteins. This scenario began with specific cytoplasmic determinants localized in specific regions of the egg. These cytoplasmic determinants were distributed unevenly to daughter cells, resulting in cells going down different developmental pathways.

Concept Check 18.5

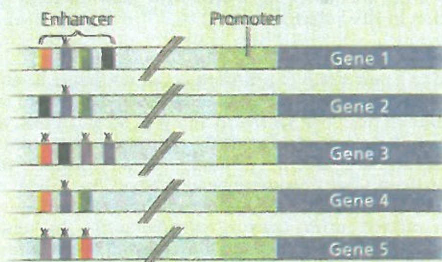
1. Apoptosis is signaled by p53 protein when a cell has extensive DNA damage, so apoptosis plays a protective role in eliminating a cell that might contribute to cancer. If mutations in the genes in the apoptotic pathway blocked apoptosis, a cell with such damage could continue to divide and might lead to tumor formation. 2. When an individual has inherited an oncogene or a mutant allele of a tumor-suppressor gene 3. A cancer-causing mutation in a proto-oncogene usually makes the gene product overactive, whereas a cancer-causing mutation in a tumor-suppressor gene usually makes the gene product nonfunctional.

Summary of Key Concepts Questions

18.1 A corepressor and an inducer are both small molecules that bind to the repressor protein in an operon, causing the repressor to change shape. In the case of a corepressor (like tryptophan), this shape change allows the repressor to bind to the operator, blocking transcription. In contrast, an inducer causes the repressor to dissociate from the operator, allowing transcription to begin. **18.2** The chromatin must not be tightly condensed because it must be accessible to transcription factors. The appropriate specific transcription factors (activators) must bind to the control elements in the enhancer of the gene, while repressors must not be bound. The DNA must be bent by a bending protein so the activators can contact the mediator proteins and form a complex with general transcription factors at the promoter. Then RNA polymerase must bind and begin transcription. **18.3** miRNAs do not "code" for the amino acids of a protein—they are never translated. Each miRNA is cleaved from its hairpin RNA structure and then trimmed by Dicer. Next, one strand is degraded while the other associates with a group of proteins to form a complex. Binding of the complex to an mRNA with a complementary sequence causes that mRNA to be degraded or blocks its translation. This is considered gene regulation because it controls the amount of a particular mRNA that can be translated into a functional protein. **18.4** The first process involves cytoplasmic determinants, including mRNAs and proteins, placed into specific locations in the egg by the mother. The cells that are formed from different regions in the egg during early cell divisions will have different proteins in them, which will direct different programs of gene expression. The second process involves the cell in question responding to signaling molecules secreted by neighboring cells. The signaling pathway in the responding cell also leads to a different pattern of gene expression. The coordination of these two processes results in each cell following a unique pathway in the developing embryo. **18.5** The protein product of a proto-oncogene is usually involved in a pathway that stimulates cell division. The protein product of a tumor-suppressor gene is usually involved in a pathway that inhibits cell division.

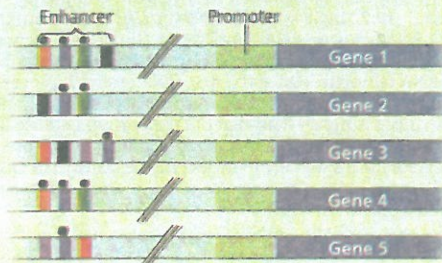
Test Your Understanding

11. a.



The purple, blue, and red activator proteins would be present.

b.



Only gene 4 would be transcribed.

c. In nerve cells, the orange, blue, green, and black activators would have to be present, thus activating transcription of genes 1, 2, and 4. In skin cells, the red, black, purple, and blue activators would have to be present, thus activating genes 3 and 5.

Chapter 19

Figure Questions

Figure 19.2 Beijerinck might have concluded that the agent was a toxin produced by the plant that was able to pass through a filter but that became more and more dilute. In this case, he would have concluded that the infectious agent could not replicate. **Figure 19.4** Top vertical arrow: Infection. Left upper arrow: Replication. Right upper arrow: Transcription. Right middle arrow: Translation. Lower left and right arrows: Self-assembly. Bottom middle arrow: Exit. **Figure 19.7** Any class V virus, including the viruses that cause influenza (flu), measles, and mumps **Figure 19.8** The main protein on the cell surface that HIV binds to is called CD4. However, HIV also requires a "co-receptor," which in many cases is a protein called CCR5. HIV binds to both of these proteins together and then is taken into the cell. Researchers discovered this requirement by studying individuals who seemed to be resistant to HIV infection despite multiple exposures. These individuals turned out to have mutations in the gene that encodes CCR5 such that the protein apparently cannot act as a co-receptor, and so HIV can't enter and infect cells.

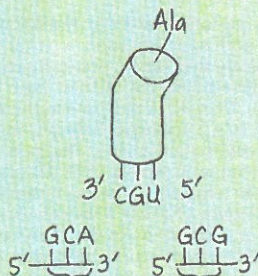
Concept Check 19.1

1. TMV consists of one molecule of RNA surrounded by a helical array of proteins. The influenza virus has eight molecules of RNA, each surrounded by a helical array of proteins, similar to the arrangement of the single RNA molecule in TMV. Another difference between the viruses is that the influenza virus has an outer envelope and TMV does not. 2. The T2 phages were an excellent choice for use in the Hershey-Chase experiment because they consist of only DNA surrounded by a protein coat, and DNA and protein were the two candidates for macromolecules that carried genetic information. Hershey and Chase were able to radioactively label each type of molecule alone and follow it during separate infections of *E. coli* cells with T2. Only the DNA entered the bacterial cell during infection, and only labeled DNA showed up in some of the progeny phage.

prevents it from being degraded by hydrolytic enzymes and facilitates its attachment to ribosomes. If the cap were removed from all mRNAs, the cell would no longer be able to synthesize any proteins and would probably die.

Concept Check 17.4

1. First, each aminoacyl-tRNA synthetase specifically recognizes a single amino acid and attaches it only to an appropriate tRNA. Second, a tRNA charged with its specific amino acid binds only to an mRNA codon for that amino acid. **2.** The structure and function of the ribosome seem to depend more on the rRNAs than on the ribosomal proteins. Because it is single-stranded, an RNA molecule can hydrogen-bond with itself and with other RNA molecules. RNA molecules make up the interface between the two ribosomal subunits, so presumably RNA-RNA binding helps hold the ribosome together. The binding site for mRNA in the ribosome includes rRNA that can bind the mRNA. Also, complementary bonding within an RNA molecule allows it to assume a particular three-dimensional shape and, along with the RNA's functional groups, presumably enables rRNA to catalyze peptide bond formation during translation. **3.** A signal peptide on the leading end of the polypeptide being synthesized is recognized by a signal-recognition particle that brings the ribosome to the ER membrane. There the ribosome attaches and continues to synthesize the polypeptide, depositing it in the ER lumen. **4.** Because of wobble, the tRNA could bind to either 5′-GCA-3′ or 5′-GCG-3′, both of which code for alanine (Ala). Alanine would be attached to the tRNA.



Concept Check 17.5

1. In the mRNA, the reading frame downstream from the deletion is shifted, leading to a long string of incorrect amino acids in the polypeptide, and in most cases, a stop codon will arise, leading to premature termination. The polypeptide will most likely be nonfunctional. **2.** Heterozygous individuals, said to have sickle-cell trait, have a copy each of the wild-type allele and the sickle-cell allele. Both alleles will be expressed, so these individuals will have both normal and sickle-cell hemoglobin molecules. Apparently, having a mix of the two forms of β-globin has no effect under most conditions, but during prolonged periods of low blood oxygen (such as at higher altitudes), these individuals can show some signs of sickle-cell disease.

3.

Normal DNA sequence (template strand is on top): 3′-TACTTGTCCGATATC-5′
5′-ATGAACAGGCTATAG-3′

mRNA sequence: 5′-AUGAACAGGCUAUAG-3′

Amino acid sequence: Met-Asn-Arg-Leu-STOP

Mutated DNA sequence (template strand is on top): 3′-TACTTGTCCAATATC-5′
5′-ATGAACAGGTTATAG-3′

mRNA sequence: 5′-AUGAACAGGUUAUAG-3′

Amino acid sequence: Met-Asn-Arg-Leu-STOP

No effect: The amino acid sequence is Met-Asn-Arg-Leu both before and after the mutation because the mRNA codons 5′-CUA-3′ and 5′-UUA-3′ both code for Leu. (The fifth codon is a stop codon.)

Concept Check 17.6

1. No, transcription and translation are separated in space and time in a eukaryotic cell, a result of the eukaryotic cell's nuclear compartment. **2.** When one ribosome terminates translation and dissociates, the two subunits would be very close to the cap. This could facilitate their rebinding and initiating synthesis of a new polypeptide, thus increasing the efficiency of translation.

Summary of Key Concepts Questions

17.1 A gene contains genetic information in the form of a nucleotide sequence. The gene is first transcribed into an RNA molecule, and a messenger RNA molecule is ultimately translated into a polypeptide. The polypeptide makes up part or all of a protein, which performs a function in the cell and contributes to the phenotype of the organism. **17.2** Both bacterial and eukaryotic genes have promoters, regions where RNA polymerase ultimately binds and begins transcription. In bacteria, RNA polymerase binds directly to the promoter; in eukaryotes, transcription factors bind first to the promoter, and then RNA polymerase binds to the transcription factors and promoter together. **17.3** Both the 5′ cap and the poly-A tail help the mRNA exit from the nucleus and then, in the cytoplasm, help ensure mRNA stability and allow it to bind to ribosomes. **17.4** tRNAs function as translators between the nucleotide-based language of mRNA and the amino-acid-based language of polypeptides. A tRNA carries a specific amino acid, and the anticodon on the tRNA is complementary to the codon on the mRNA that codes for that amino acid. In the ribosome, the tRNA binds to the A site, where the polypeptide being synthesized is joined to the new amino acid, which becomes the new (C-terminal) end of the polypeptide. Next, the tRNA moves to the P site. When the next amino acid is added via transfer of the polypeptide to the new tRNA, the now empty tRNA moves to the E site, where it exits the ribosome. **17.5** When a nucleotide base is altered chemically, its base-pairing characteristics may be changed. When that happens, an incorrect nucleotide is likely to be incorporated into the complementary strand during the next replication of the DNA, and successive rounds of replication will perpetuate the mutation. Once the gene is transcribed, the mutated codon may code for a different amino acid that inhibits or changes the function of a protein. If the chemical change in the base is detected and repaired by the DNA repair system before the next replication, no mutation will result. **17.6** The presence of a nuclear envelope in eukaryotes means that transcription and translation are separated in space and therefore in time. This separation allows other processes (specifically, RNA processing) to occur and provides other steps at which gene expression can be regulated.

Test Your Understanding

8.

Type of RNA	Functions
Messenger RNA (mRNA)	Carries information specifying amino acid sequences of proteins from DNA to ribosomes
Transfer RNA (tRNA)	Serves as translator molecule in protein synthesis; translates mRNA codons into amino acids
Ribosomal RNA (rRNA)	Plays catalytic (ribozyme) roles and structural roles in ribosomes
Primary transcript	Is a precursor to mRNA, rRNA, or tRNA, before being processed; some intron RNA acts as a ribozyme, catalyzing its own splicing
Small nuclear RNA (snRNA)	Plays structural and catalytic roles in spliceosomes, the complexes of protein and RNA that splice pre-mRNA

Chapter 18

Figure Questions

Figure 18.3 As the concentration of tryptophan in the cell falls, eventually there will be none bound to repressor molecules. These will then take on their inactive shapes and dissociate from the operator, allowing transcription of the operon to resume. The enzymes for tryptophan synthesis will be made, and they will begin to synthesize tryptophan again in the cell. **Figure 18.11** The albumin gene enhancer has the three control elements colored yellow, gray, and red. The sequences in the liver and lens cells would be identical, since the cells are in the same organism. **Figure 18.18** Even if the mutant MyoD protein couldn't activate the *myoD* gene, it could still turn on genes for the other proteins in the pathway (other transcription factors, which would turn on the genes for muscle-specific proteins, for example). Therefore, some differentiation would occur. But unless there were other activators that could compensate for the loss of the MyoD protein's activation of the *myoD* gene, the cell would not be able to maintain its differentiated state. **Figure 18.22** Normal Bicoid protein would be made in the anterior end and compensate for the presence of mutant *bicoid* mRNA put into the egg by the mother. Development should be normal, with a head present. **Figure 18.24** The mutation is likely to be recessive because it is more likely to have an effect if both copies of the gene are mutated and code for nonfunctional proteins. If one normal copy of the gene is present, its product could inhibit the cell cycle. (However, there are also known cases of dominant *p53* mutations.)

Concept Check 18.1

1. Binding by the *trp* corepressor (tryptophan) activates the *trp* repressor, shutting off transcription of the *trp* operon; binding by the *lac* inducer (allolactose) inactivates the *lac* repressor, leading to transcription of the *lac* operon. **2.** When glucose is scarce, cAMP is bound to CAP and CAP is bound to the promoter, favoring the binding of RNA polymerase. However, in the absence of lactose, the repressor is bound to the operator, blocking RNA polymerase binding to the promoter. Therefore, the operon genes are not transcribed. **3.** The cell would continuously

2.

Protein	Function
Helicase	Unwinds parental double helix at replication forks
Single-strand binding protein	Binds to and stabilizes single-stranded DNA until it can be used as a template
Topoisomerase	Relieves "overwinding" strain ahead of replication forks by breaking, swiveling, and rejoining DNA strands
Primase	Synthesizes an RNA primer at 5′ end of leading strand and at 5′ end of each Okazaki fragment of lagging strand
DNA pol III	Using parental DNA as a template, synthesizes new DNA strand by covalently adding nucleotides to 3′ end of a pre-existing DNA strand or RNA primer
DNA pol I	Removes RNA nucleotides of primer from 5′ end and replaces them with DNA nucleotides
DNA ligase	Joins 3′ end of DNA that replaces primer to rest of leading strand and joins Okazaki fragments of lagging strand

3. In the cell cycle, DNA synthesis occurs during the S phase, between the G_1 and G_2 phases of interphase. DNA replication is therefore complete before the mitotic phase begins. 4. Synthesis of the leading strand is initiated by an RNA primer, which must be removed and replaced with DNA, a task that could not be performed if the cell's DNA pol I were nonfunctional. In the overview box in Figure 16.17, just to the left of the top origin of replication, a functional DNA pol I would replace the RNA primer of the leading strand (shown in red) with DNA nucleotides (blue).

Concept Check 16.3

1. A nucleosome is made up of eight histone proteins, two each of four different types, around which DNA is wound. Linker DNA runs from one nucleosome to the next. 2. Euchromatin is chromatin that becomes less compacted during interphase and is accessible to the cellular machinery responsible for gene activity. Heterochromatin, on the other hand, remains quite condensed during interphase and contains genes that are largely inaccessible to this machinery. 3. The nuclear lamina is a netlike array of protein filaments that provides mechanical support just inside the nuclear envelope and thus maintains the shape of the nucleus. Considerable evidence also supports the existence of a nuclear matrix, a framework of protein fibers extending throughout the nuclear interior.

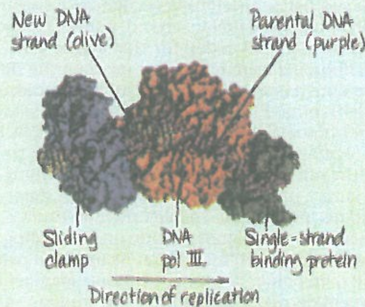
Summary of Key Concepts Questions

16.1 Each strand in the double helix has polarity, the end with a phosphate group on the 5′ carbon of the sugar being called the 5′ end, and the end with an —OH group on the 3′ carbon of the sugar being called the 3′ end. The two strands run in opposite directions, so each end of the molecule has both a 5′ and a 3′ end. This arrangement is called "antiparallel." If the strands were parallel, they would both run 5′ → 3′ in the same direction, so an end of the molecule would have either two 5′ ends or two 3′ ends. 16.2 On both the leading and lagging strands, DNA polymerase adds onto the 3′ end of an RNA primer synthesized by primase, synthesizing DNA in the 5′ → 3′ direction. Because the parental strands are antiparallel, however, only on the leading strand does synthesis proceed continuously into the replication fork. The lagging strand is synthesized bit by bit in the direction away from the fork as a series of shorter Okazaki fragments, which are later joined together by DNA ligase. Each fragment is initiated by synthesis of an RNA primer by primase as soon as a given stretch of single-stranded template strand is opened up. Although both strands are synthesized at the same rate, synthesis of the lagging strand is delayed because initiation of each fragment begins only when sufficient template strand is available. 16.3 Most of the chromatin in an interphase nucleus is uncondensed. Much is present as the 30-nm fiber, with some in the form of the 10-nm fiber and some as looped domains of the 30-nm fiber. (These different levels of chromatin packing may reflect differences in gene expression occurring in these regions.) Also, a small percentage of the chromatin, such as that at the centromeres and telomeres, is highly condensed heterochromatin.

Test Your Understanding

9. Like histones, the *E. coli* proteins would be expected to contain many basic (positively charged) amino acids, such as lysine and arginine, which can form weak bonds with the negatively charged phosphate groups on the sugar-phosphate backbone of the DNA molecule. 10. Each species' DNA has a slightly different percentage of a given base. For example, the percentage of A ranges from 24.7% for *E. coli* to 32.8% for sea urchin. This illustrates Chargaff's rule that the DNA of different species varies in its base composition. Chargaff's other rule states that in any given species, the percentage of A is roughly equal to that of T, and the percentage of C is roughly equal to that of G. For example, sea urchins have about 32–33% each of A and T and about 17% of G and C. (Your answer may use any similar examples from the table.)

12.



Chapter 17

Figure Questions

Figure 17.2 The previously presumed pathway would have been wrong. The new results would support this pathway: precursor → citrulline → ornithine → arginine. They would also indicate that class I mutants have a defect in the second step and class II mutants have a defect in the first step. **Figure 17.4** The mRNA sequence (5′-UGGUUUGGCUCA-3′) is the same as the nontemplate DNA strand sequence (5′-TGGTTTGGCTCA-3′), except there is U in the mRNA and T in the DNA. **Figure 17.7** The processes are similar in that polymerases form polynucleotides complementary to an antiparallel DNA template strand. In replication, however, both strands act as templates, whereas in transcription, only one DNA strand acts as a template. **Figure 17.8** The RNA polymerase would bind directly to the promoter, rather than depending on the previous binding of other factors. **Figure 17.25** The mRNA on the right (the longest one) started transcription first. The ribosome at the top, closest to the DNA, started translating first and thus has the longest polypeptide.

Concept Check 17.1

1. Recessive 2. A polypeptide made up of 10 Gly (glycine) amino acids

3. Template sequence (from problem): 3′-TTCAGTCGT-5′

Nontemplate sequence: 5′-AAGTCAGCA-3′

mRNA sequence: 5′-AAGUCAGCA-3′

The nontemplate and mRNA nucleotide sequences are the same except that there is T in the nontemplate strand of DNA wherever there is U in the mRNA.

4. "Template sequence" (from nontemplate sequence in problem, written 3′ → 5′): 3′-ACGACTGAA-5′

mRNA sequence: 5′-UGCUGACUU-3′

Translated: Cys-STOP-Leu

(Remember that the mRNA is antiparallel to the DNA strand.) A protein translated from the nontemplate sequence would have a completely different amino acid sequence and would most likely be nonfunctional. (It would also be shorter because of the stop signal shown in the mRNA sequence above—and possibly others earlier in the mRNA sequence.)

Concept Check 17.2

1. Both assemble nucleic acid chains from monomer nucleotides whose order is determined by complementary base pairing to a template strand. Both synthesize in the 5′ → 3′ direction, antiparallel to the template. DNA polymerase requires a primer, but RNA polymerase can start a nucleotide chain from scratch. DNA polymerase uses nucleotides with the sugar deoxyribose and the base T, whereas RNA polymerase uses nucleotides with the sugar ribose and the base U. 2. The promoter is the region of DNA to which RNA polymerase binds to begin transcription, and it is at the upstream end of the gene (transcription unit). 3. In a bacterial cell, RNA polymerase recognizes the gene's promoter and binds to it. In a eukaryotic cell, transcription factors mediate the binding of RNA polymerase to the promoter. In both cases, sequences in the promoter bind precisely to the RNA polymerase, so the enzyme is in the right location and orientation. 4. The transcription factor that recognizes the TATA sequence would be unable to bind, so RNA polymerase could not bind and transcription of that gene probably would not occur.

Concept Check 17.3

1. Due to alternative splicing of exons, each gene can result in multiple different mRNAs and can thus direct synthesis of multiple different proteins. 2. In editing a video, segments are cut out and discarded (like introns), and the remaining segments are joined together (like exons) so that the regions of joining ("splicing") are not noticeable. 3. Once the mRNA has exited the nucleus, the cap

nant phenotype arise from fertilization of the recombinant gametes by homozygous recessive gametes from the double-mutant parent. **2.** In each case, the alleles contributed by the female parent determine the phenotype of the offspring because the male in this cross contributes only recessive alleles. **3.** No. The order could be *A-C-B* or *C-A-B*. To determine which possibility is correct, you need to know the recombination frequency between *B* and *C*.

Concept Check 15.4

1. In meiosis, a combined 14-21 chromosome will behave as one chromosome. If a gamete receives the combined 14-21 chromosome and a normal copy of chromosome 21, trisomy 21 will result when this gamete combines with a normal gamete during fertilization. **2.** No. The child can be either I^AI^Ai or I^Aii. A sperm of genotype I^AI^A could result from nondisjunction in the father during meiosis II, while an egg with the genotype *ii* could result from nondisjunction in the mother during either meiosis I or meiosis II. **3.** Activation of this gene could lead to the production of too much of this kinase. If the kinase is involved in a signaling pathway that triggers cell division, too much of it could trigger unrestricted cell division, which in turn could contribute to the development of a cancer (in this case, a cancer of one type of white blood cell).

Concept Check 15.5

1. Inactivation of an X chromosome in females and genomic imprinting. Because of X inactivation, the effective dose of genes on the X chromosome is the same in males and females. As a result of genomic imprinting, only one allele of certain genes is phenotypically expressed. **2.** The genes for leaf coloration are located in plastids within the cytoplasm. Normally, only the maternal parent transmits plastid genes to offspring. Since variegated offspring are produced only when the female parent is of the B variety, we can conclude that variety B contains both the wild-type and mutant alleles of pigment genes, producing variegated leaves. (Variety A contains only the wild-type allele of pigment genes.) **3.** The situation is similar to that for chloroplasts. Each cell contains numerous mitochondria, and in affected individuals, most cells contain a variable mixture of normal and mutant mitochondria. The normal mitochondria carry out enough cellular respiration for survival.

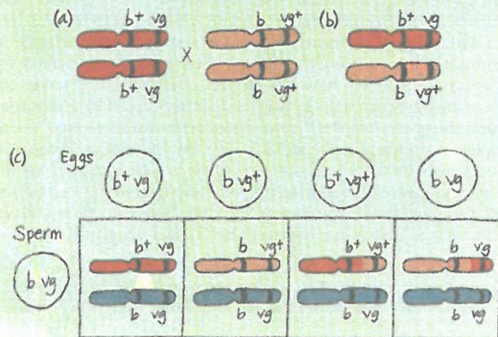
Summary of Key Concepts Questions

15.1 Because the sex chromosomes are different from each other and because they determine the sex of the offspring, Morgan could use the sex of the offspring as a phenotypic characteristic to follow the parental chromosomes. (He could also have followed them under a microscope, as the X and Y chromosomes look different.) At the same time, he could record eye color to follow the eye-color alleles. **15.2** Males have only one X chromosome, along with a Y chromosome, while females have two X chromosomes. The Y chromosome has very few genes on it, while the X has about 1,000. When a recessive X-linked allele that causes a disorder is inherited by a male on the X from his mother, there isn't a second allele present on the Y (males are hemizygous), so the male has the disorder. Because females have two X chromosomes, they must inherit two recessive alleles in order to have the disorder, a rarer occurrence. **15.3** Crossing over results in new combinations of alleles. Crossing over is a random occurrence, and the more distance there is between two genes, the more chances there are for crossing over to occur, leading to a new allele combination. **15.4** In inversions and reciprocal translocations, the same genetic material is present in the same relative amount but just organized differently. In aneuploidy, duplications, deletions, and nonreciprocal translocations, the balance of genetic material is upset, as large segments are either missing or present in more than one copy. Apparently, this type of imbalance is very damaging to the organism. (Although it isn't lethal in the developing embryo, the reciprocal translocation that produces the Philadelphia chromosome can lead to a serious condition, cancer, by altering the expression of important genes.) **15.5** In these cases, the sex of the parent contributing an allele affects the inheritance pattern. For imprinted genes, either the paternal or the maternal allele is expressed, depending on the imprint. For mitochondrial and chloroplast genes, only the maternal contribution will affect offspring phenotype because the offspring inherit these organelles from the mother, via the egg cytoplasm.

Test Your Understanding

1. 0; ½; ¹⁄₁₆ **2.** Recessive; if the disorder were dominant, it would affect at least one parent of a child born with the disorder. The disorder's inheritance is sex-linked because it is seen only in boys. For a girl to have the disorder, she would have to inherit recessive alleles from *both* parents. This would be very rare, since males with the recessive allele on their X chromosome die in their early teens. **3.** 17% **4.** The disorder would always be inherited from the mother. **5.** Between *T* and *A*, 12%; between *A* and *S*, 5% **6.** Between *T* and *S*, 18%; sequence of genes is *T–A–S* **7.** ¼ for each daughter (½ chance that child will be female × ½ chance of a homozygous recessive genotype); ½ for first son. **8.** 6%; wild-type heterozygous for normal wings and red eyes) × recessive homozygous for vestigial wings and purple eyes

9.



(d) 41.5% gray body, vestigial wings
41.5% black body, normal wings
8.5% gray body, normal wings
8.5% black body, vestigial wings

10. The inactivation of two X chromosomes in XXX women would leave them with one genetically active X, as in women with the normal number of chromosomes. Microscopy should reveal two Barr bodies in XXX women. **11.** *D–A–B–C* **12.** Fifty percent of the offspring will show phenotypes resulting from crossovers. These results would be the same as those from a cross where *A* and *B* were *not* on the same chromosome. Further crosses involving other genes on the same chromosome would reveal the genetic linkage and map distances. **13.** 450 each of blue-oval and white-round (parentals) and 50 each of blue-round and white-oval (recombinants) **14.** About one-third of the distance from the vestigial-wing locus to the brown-eye locus **15.** Because bananas are triploid, homologous pairs cannot line up during meiosis. Therefore, it is not possible to generate gametes that can fuse to produce a zygote with the triploid number of chromosomes.

Chapter 16

Figure Questions

Figure 16.2 The living S cells found in the blood sample were able to reproduce to yield more S cells, indicating that the S trait is a permanent, heritable change, rather than just a one-time use of the dead S cells' capsules. **Figure 16.4** The radioactivity would have been found in the pellet when proteins were labeled (batch 1) because proteins would have had to enter the bacterial cells to program them with genetic instructions. It's hard for us to imagine now, but the DNA might have played a structural role that allowed some of the proteins to be injected while it remained outside the bacterial cell (thus no radioactivity in the pellet in batch 2). **Figure 16.11** The tube from the first replication would look the same, with a middle band of hybrid ^{15}N-^{14}N DNA, but the second tube would not have the upper band of two light blue strands. Instead it would have a bottom band of two dark blue strands, like the bottom band in the result predicted after one replication in the conservative model. **Figure 16.12** In the bubble at the top in (b), arrows should be drawn pointing left and right to indicate the two replication forks. **Figure 16.14** Looking at any of the DNA strands, we see that one end is called the 5′ end and the other the 3′ end. If we proceed from the 5′ end to the 3′ end on the left-most strand, for example, we list the components in this order: phosphate group → 5′ C of the sugar → 3′ C → phosphate → 5′ C → 3′ C. Going in the opposite direction on the same strand, the components proceed in the reverse order: 3′ C → 5′ C → phosphate. Thus, the two directions are distinguishable, which is what we mean when we say that the strands have directionality. (Review Figure 16.5 if necessary.)

Figure 16.17

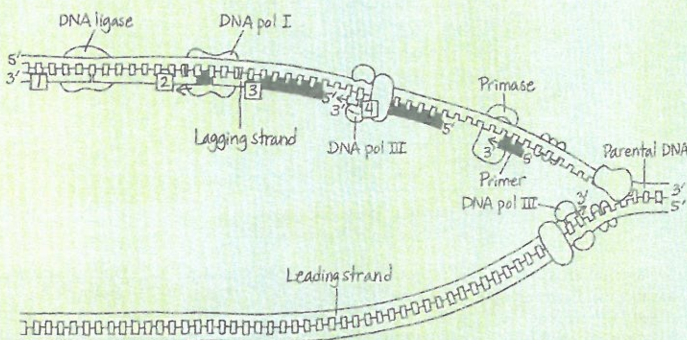


Figure 16.23 The two members of a homologous pair (which would be the same color) would be associated tightly together at the metaphase plate. In metaphase of mitosis, however, each chromosome would be lined up individually, so the two chromosomes of the same color would be in different places at the metaphase plate.

Concept Check 16.1

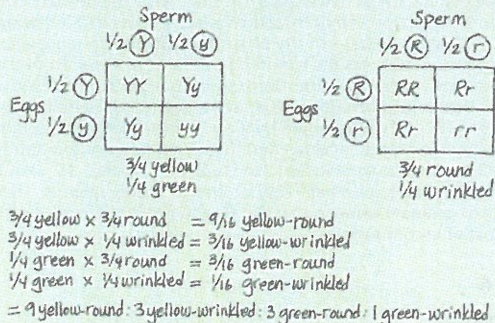
1. Chargaff's rule about base ratios states that in DNA, the percentages of A and T are essentially the same, as are those of G and C. The fly data are consistent with that rule. (Slight variations are most likely due to limitations of analytical technique.) **2.** You can't tell which end is the 5′ end. You need to know which end has a phosphate group on the 5′ carbon (the 5′ end) or which end has an —OH group on the 3′ carbon (the 3′ end). **3.** He was expecting that the mouse injected with the mixture of heat-killed S cells and living R cells would survive, since neither type of cell alone would kill the mouse.

Concept Check 16.2

1. Complementary base pairing ensures that the two daughter molecules are exact copies of the parental molecule. When the two strands of the parental molecule separate, each serves as a template on which nucleotides are arranged, by the base-pairing rules, into new complementary strands.

homozygous parents, the F_1 offspring are all heterozygous, each inheriting a purple allele from one parent and a white allele from the other. Because the purple allele is dominant, it determines the phenotype of the F_1 offspring to be purple, and the expression of the white allele is masked. Only in the F_2 generation is it possible for a white allele to exist in a homozygous state, which causes the white trait to be expressed.

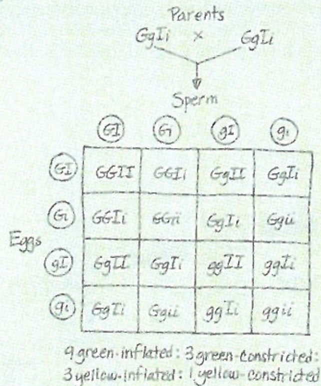
14.2



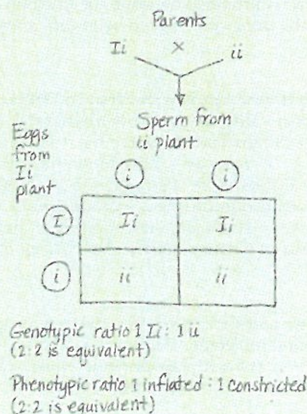
14.3 The ABO blood group is an example of multiple alleles because this single gene has more than two alleles (I^A, I^B, and i). Two of the alleles, I^A and I^B, exhibit codominance, since both carbohydrates (A and B) are present when these two alleles exist together in a genotype. I^A and I^B each exhibit complete dominance over the i allele. This situation is not an example of incomplete dominance because each allele affects the phenotype in a distinguishable way, so the result is not intermediate between the two phenotypes. Because this situation involves a single gene, it is not an example of epistasis or polygenic inheritance. **14.4** The chance of the fourth child having cystic fibrosis is 1/4, as it was for each of the other children, because each birth is an independent event. We already know both parents are carriers, so whether their first three children are carriers or not has no bearing on the probability that their next child will have the disease. The parents' genotypes provide the only relevant information.

Test Your Understanding

1. Gene, l. Allele, e. Character, g. Trait, b. Dominant allele, j. Recessive allele, a. Genotype, k. Phenotype, h. Homozygous, c. Heterozygous, f. Testcross, i. Monohybrid cross, d.
2.



3. Parental cross is $AAC^RC^R \times aaC^WC^W$. F_1 genotype is AaC^RC^W, phenotype is all axial-pink. F_2 genotypes are 1 AAC^RC^R : 2 AAC^RC^W : 1 AAC^WC^W : 2 AaC^RC^R : 4 AaC^RC^W : 2 AaC^WC^W : 1 aaC^RC^R : 2 aaC^RC^W : 1 aaC^WC^W. F_2 phenotypes are 3 axial-red : 6 axial-pink : 3 axial-white : 1 terminal-red : 2 terminal-pink : 1 terminal-white. 4. Man I^Ai; woman I^Bi; child ii. Genotypes for future children are predicted to be 1/4 I^AI^B, 1/4 I^Ai, 1/4 I^Bi, 1/4 ii. 5. 1/2 6. A cross of $Ii \times ii$ would yield offspring with a genotypic ratio of 1 Ii : 1 ii (2:2 is an equivalent answer) and a phenotypic ratio of 1 inflated : 1 constricted (2:2 is equivalent).

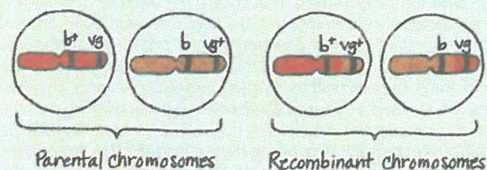


7. (a) 1/64; (b) 1/64; (c) 1/8; (d) 1/32 8. Albino (b) is a recessive trait; black (B) is dominant. First cross: parents $BB \times bb$; gametes B and b; offspring all Bb (black coat). The black guinea pig in the second cross is a heterozygote. Second cross: parents $Bb \times bb$; gametes 1/2 B and 1/2 b (heterozygous parent) and b; offspring 1/2 Bb and 1/2 bb. 9. (a) $PPLl \times PPLl$, $PPLl \times PpLl$, or $PPLl \times ppLl$; (b) $ppLl \times ppLl$; (c) $PPLL \times$ any of the 9 possible genotypes or $PPll \times ppLL$; (d) $PpLl \times Ppll$; (e) $PpLl \times PpLl$ 10. (a) 3/4 × 3/4 × 3/4 = 27/64; (b) 1 − 27/64 = 37/64; (c) 1/4 × 1/4 × 1/4 = 1/64; (d) 1 − 1/64 = 63/64 11. (a) 1/256; (b) 1/16; (c) 1/256; (d) 1/64; (e) 1/128 12. (a) 1; (b) 1/32; (c) 1/8; (d) 1/2 13. 1/9 14. Matings of the original mutant cat with true-breeding noncurl cats will produce both curl and noncurl F_1 offspring if the curl allele is dominant, but only noncurl offspring if the curl allele is recessive. You would obtain some true-breeding offspring homozygous for the curl allele from matings between the F_1 cats resulting from the original curl × noncurl crosses whether the curl trait is dominant or recessive. You know that cats are true-breeding when curl × curl matings produce only curl offspring. As it turns out, the allele that causes curled ears is dominant. 15. 1/16 16. 25%, or 1/4, will be cross-eyed; all (100%) of the cross-eyed offspring will also be white. 17. The dominant allele I is epistatic to the P/p locus, and thus the genotypic ratio for the F_1 generation will be 9 $I_P_$ (colorless) : 3 I_pp (colorless) : 3 $iiP_$ (purple) : 1 $iipp$ (red). Overall, the phenotypic ratio is 12 colorless : 3 purple : 1 red. 18. Recessive. All affected individuals (Arlene, Tom, Wilma, and Carla) are homozygous recessive aa. George is Aa, since some of his children with Arlene are affected. Sam, Ann, Daniel, and Alan are each Aa, since they are all unaffected children with one affected parent. Michael also is Aa, since he has an affected child (Carla) with his heterozygous wife Ann. Sandra, Tina, and Christopher can each have either the AA or Aa genotype. 19. 1/6 20. 9 $B_A_$ (agouti) : 3 B_aa (black) : 3 $bbA_$ (white) : 1 $bbaa$ (white). Overall, 9 agouti : 3 black : 4 white.

Chapter 15

Figure Questions

Figure 15.2 The ratio would be 1 yellow-round : 1 green-round : 1 yellow-wrinkled : 1 green-wrinkled. **Figure 15.4** About 3/4 of the F_2 offspring would have red eyes and about 1/4 would have white eyes. About half of the white-eyed flies would be female and half would be male; similarly, about half of the red-eyed flies would be female and half would be male. **Figure 15.7** All the males would be color-blind, and all the females would be carriers. **Figure 15.9** The two largest classes would still be the parental-type offspring (offspring with the phenotypes of the true-breeding P generation flies), but now they would be gray-vestigial and black-normal because those were the specific allele combinations in the P generation. **Figure 15.10** The two chromosomes below, left, are like the two chromosomes inherited by the F_1 female, one from each P generation fly. They are passed by the F_1 female intact to the offspring and thus could be called "parental" chromosomes. The other two chromosomes result from crossing over during meiosis in the F_1 female. Because they have combinations of alleles not seen in either of the F_1 female's chromosomes, they can be called "recombinant" chromosomes. (Note that in this example, the alleles on the recombinant chromosomes, $b^+ vg^+$ and $b\ vg$, are the allele combinations that were on the parental chromosomes in the cross shown in Figures 15.9 and 15.10. The basis for calling them parental chromosomes is the combination of alleles that was present on the P generation chromosomes.)



Concept Check 15.1

1. The law of segregation relates to the inheritance of alleles for a single character. The law of independent assortment of alleles relates to the inheritance of alleles for two characters. 2. The physical basis for the law of segregation is the separation of homologs in anaphase I. The physical basis for the law of independent assortment is the alternative arrangements of homologous chromosome pairs in metaphase I. 3. To show the mutant phenotype, a male needs to possess only one mutant allele. If this gene had been on a pair of autosomes, *two* mutant alleles would have had to be present for an individual to show the recessive mutant phenotype, a much less probable situation.

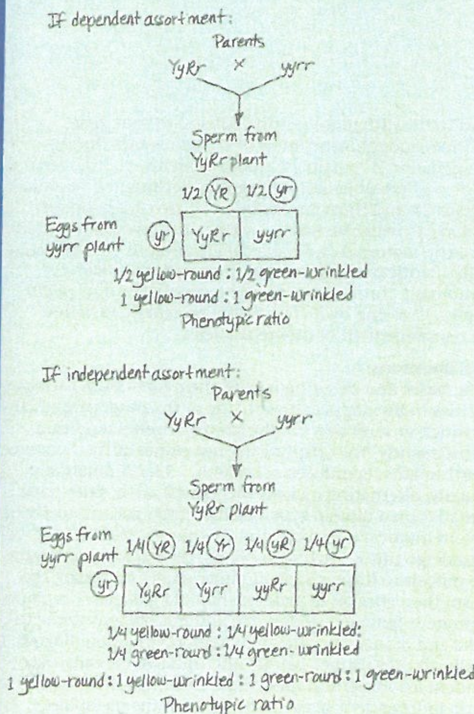
Concept Check 15.2

1. Because the gene for this eye-color character is located on the X chromosome, all female offspring will be red-eyed and heterozygous ($X^{w^+}X^w$); all male offspring will inherit a Y chromosome from the father and be white-eyed (X^wY). 2. 1/4 (1/2 chance that the child will inherit a Y chromosome from the father and be male × 1/2 chance that he will inherit the X carrying the disease allele from his mother.) If the child is a boy, there is a 1/2 chance he will have the disease; a female would have zero chance (but 1/2 chance of being a carrier). 3. With a disorder caused by a dominant allele, there is no such thing as a "carrier," since those with the allele have the disorder. Because the allele is dominant, the females lose any "advantage" in having two X chromosomes, since one disorder-associated allele is sufficient to result in the disorder. All fathers who have the dominant allele will pass it along to *all* their daughters, who will also have the disorder. A mother who has the allele (and thus the disorder) will pass it to half of her sons and half of her daughters.

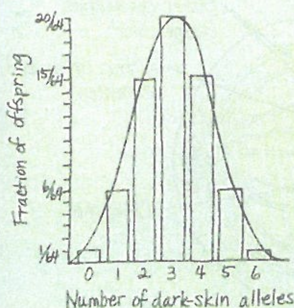
Concept Check 15.3

1. Crossing over during meiosis I in the heterozygous parent produces some gametes with recombinant genotypes for the two genes. Offspring with a recombi-

Figure 14.8



Yes, this cross would also have allowed Mendel to make different predictions for the two hypotheses, thereby allowing him to distinguish the correct one.
Figure 14.10 Your classmate would probably point out that the F_1 generation hybrids show an intermediate phenotype between those of the homozygous parents, which supports the blending hypothesis. You could respond that crossing the F_1 hybrids results in the reappearance of the white phenotype, rather than identical pink offspring, which fails to support the idea of traits blending during inheritance.
Figure 14.11 Both the I^A and I^B alleles are dominant to the *i* allele, which results in no attached carbohydrate. The I^A and I^B alleles are codominant; both are expressed in the phenotype of I^AI^B heterozygotes, who have type AB blood.
Figure 14.13



The majority of individuals have intermediate phenotypes (skin color in the middle range), while fewer individuals have phenotypes at either end (very dark or very light skin). (As you may know, this is called a "bell curve" and represents a "normal distribution.") **Figure 14.16** In the Punnett square, two of the three individuals with normal coloration are carriers, so the probability is 2/3. (Note that you must take into account everything you know when you calculate probability: You know she is not *aa*, so there are only three possible genotypes to consider.) **Figure 14.18** If one parent tests negative for the recessive allele, then the probability is zero that the offspring will have the disease and 1/2 that the offspring will be a carrier. If the first child is a carrier, the probability of the next child being a carrier is still 1/2 because the two births are independent events.

Concept Check 14.1

1. According to the law of independent assortment, 25 plants (1/16 of the offspring) are predicted to be *aatt*, or recessive for both characters. The actual result is likely to differ slightly from this value.

Parents: AaTt × AaTt

Sperm from AaTt plant (columns); Eggs from AaTt plant (rows)

	(AT)	(At)	(aT)	(at)
(AT)	AATT	AATt	AaTT	AaTt
(At)	AATt	AAtt	AaTt	Aatt
(aT)	AaTT	AaTt	aaTT	aaTt
(at)	AaTt	Aatt	aaTt	aatt

2. The plant could make eight different gametes (*YRI, YRi, YrI, Yri, yRI, yRi, yrI,* and *yri*). To fit all the possible gametes in a self-pollination, a Punnett square would need 8 rows and 8 columns. It would have spaces for the 64 possible unions of gametes in the offspring. 3. Self-pollination is sexual reproduction because meiosis is involved in forming gametes, which unite during fertilization. As a result, the offspring in self-pollination are genetically different from the parent. (As mentioned in the footnote on p. 309, we have simplified the explanation in referring to the single pea plant as a parent. Technically, the gametophytes in the flower are the two "parents.")

Concept Check 14.2

1. 1/2 homozygous dominant (*AA*), 0 homozygous recessive (*aa*), and 1/2 heterozygous (*Aa*) 2. 1/4 *BBDD*; 1/4 *BbDD*; 1/4 *BBDd*; 1/4 *BbDd* 3. The genotypes that fulfill this condition are *ppyyIi, ppYyii, Ppyyii, ppYYii,* and *ppyyii*. Use the multiplication rule to find the probability of getting each genotype, and then use the addition rule to find the overall probability of meeting the conditions of this problem:

ppyyIi	1/2 (probability of pp) × 1/4 (yy) × 1/2 (ii)	= 1/16
ppYyii	1/2 (pp) × 1/2 (Yy) × 1/2 (ii)	= 2/16
Ppyyii	1/2 (Pp) × 1/4 (yy) × 1/2 (ii)	= 1/16
ppYYii	1/2 (pp) × 1/4 (YY) × 1/2 (ii)	= 1/16
ppyyii	1/2 (pp) × 1/4 (yy) × 1/2 (ii)	= 1/16
Fraction predicted to have at least two recessive traits		= 6/16 or 3/8

Concept Check 14.3

1. Incomplete dominance describes the relationship between two alleles of a single gene, whereas epistasis relates to the genetic relationship between two genes (and the respective alleles of each). 2. Half of the children would be expected to have type A blood and half type B blood. 3. The black and white alleles are incompletely dominant, with heterozygotes being gray in color. A cross between a gray rooster and a black hen should yield approximately equal numbers of gray and black offspring.

Concept Check 14.4

1. 1/9 (Since cystic fibrosis is caused by a recessive allele, Beth and Tom's siblings who have CF must be homozygous recessive. Therefore, each parent must be a carrier of the recessive allele. Since neither Beth nor Tom has CF, this means they each have a 2/3 chance of being a carrier. If they are both carriers, there is a 1/4 chance that they will have a child with CF. 2/3 × 2/3 × 1/4 = 1/9); 0 (Both Beth and Tom would have to be carriers to produce a child with the disease.) 2. In normal hemoglobin, the sixth amino acid is glutamic acid (Glu), which is acidic (has a negative charge on its side chain). In sickle-cell hemoglobin, Glu is replaced by valine (Val), which is a nonpolar amino acid, very different from Glu. The primary structure of a protein (its amino acid sequence) ultimately determines the shape of the protein and thus its function. The substitution of Val for Glu enables the hemoglobin molecules to interact with each other and form long fibers, leading to the protein's deficient function and the deformation of the red blood cell. 3. Joan's genotype is *Dd*. Because the allele for polydactyly (*D*) is dominant to the allele for five digits per appendage (*d*), the trait is expressed in people with either the *DD* or *Dd* genotype. But because Joan's father does not have polydactyly, his genotype must be *dd*, which means that Joan inherited a *d* allele from him. Therefore Joan, who does have the trait, must be heterozygous. 4. In the monohybrid cross involving flower color, the ratio is 3.15 purple : 1 white, while in the human family in the pedigree, the ratio in the third generation is 1 free : 1 attached earlobe. The difference is due to the small sample size (two offspring) in the human family. If the second-generation couple in this pedigree were able to have 929 offspring as in the pea plant cross, the ratio would likely be closer to 3:1. (Note that none of the pea plant crosses in Table 14.1 yielded *exactly* a 3:1 ratio.)

Summary of Key Concepts Questions

14.1 Alternative versions of genes, called alleles, are passed from parent to offspring during sexual reproduction. In a cross between purple- and white-flowered

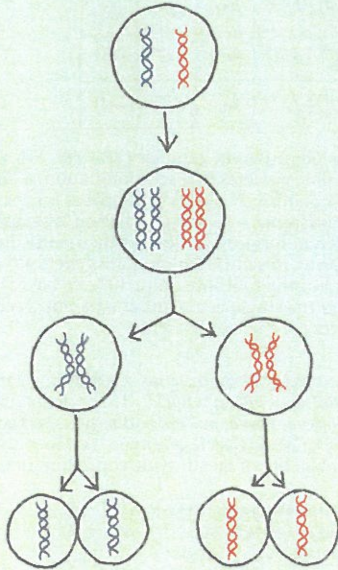
توجه: برای اینکه دسترسی شما عزیزان به پاسخ سوالات سخت‌تر شود و با اصطلاحات زبان انگلیسی آشناتر شوید تصمیم گرفتیم پاسخ‌ها را ترجمه نکنیم!

با آرزوی موفقیت شما

Chapter 13

Figure Questions

Figure 13.4 The haploid number, *n*, is 3. A set is always haploid.
Figure 13.7



(A short strand of DNA is shown here for simplicity, but each chromosome or chromatid contains a very long coiled and folded DNA molecule.)
Figure 13.8 If the two cells in Figure 12.7 underwent another round of mitosis, each of the four resulting cells would have six chromosomes, while the four cells resulting from meiosis in Figure 13.8 each have three chromosomes. In mitosis, DNA replication (and thus chromosome duplication) precedes each prophase, ensuring that daughter cells have the same number of chromosomes as the parent cell. In meiosis, in contrast, DNA replication occurs only before prophase I (not prophase II). Thus, in two rounds of mitosis, the chromosomes duplicate twice and divide twice, while in meiosis, the chromosomes duplicate once and divide twice. **Figure 13.9** Yes. Each of the six chromosomes (three per cell) shown in telophase I has one nonrecombinant chromatid and one recombinant chromatid. Therefore, eight possible sets of chromosomes can be generated for the cell on the left and eight for the cell on the right.

Concept Check 13.1

1. Parents pass genes to their offspring; the genes program cells to make specific enzymes and other proteins, whose cumulative action produces an individual's inherited traits. **2.** Such organisms reproduce by mitosis, which generates offspring whose genomes are exact copies of the parent's genome (in the absence of mutation). **3.** She should clone it. Cross-breeding it with another plant would generate offspring that have additional variation, which she no longer desires now that she has obtained her ideal orchid.

Concept Check 13.2

1. Each of the six chromosomes is duplicated, so each contains two DNA double helices. Therefore, there are 12 DNA molecules in the cell. **2.** In meiosis, the chromosome count is reduced from diploid to haploid; the union of two haploid gametes in fertilization restores the diploid chromosome count. **3.** The haploid number (*n*) is 7; the diploid number (2*n*) is 14. **4.** This organism has the life cycle shown in Figure 13.6c. Therefore, it must be a fungus or a protist, perhaps an alga.

Concept Check 13.3

1. The chromosomes are similar in that each is composed of two sister chromatids, and the individual chromosomes are positioned similarly at the metaphase plate. The chromosomes differ in that in a mitotically dividing cell, sister chromatids of each chromosome are genetically identical, but in a meiotically dividing cell, sister chromatids are genetically distinct because of crossing over in meiosis I. Moreover, the chromosomes in metaphase of mitosis can be a diploid set or a haploid set, but the chromosomes in metaphase of meiosis II always consist of a haploid set. **2.** If crossing over did not occur, the two homologs would not be associated in any way. This might result in incorrect arrangement of homologs during metaphase I and ultimately in formation of gametes with an abnormal number of chromosomes.

Concept Check 13.4

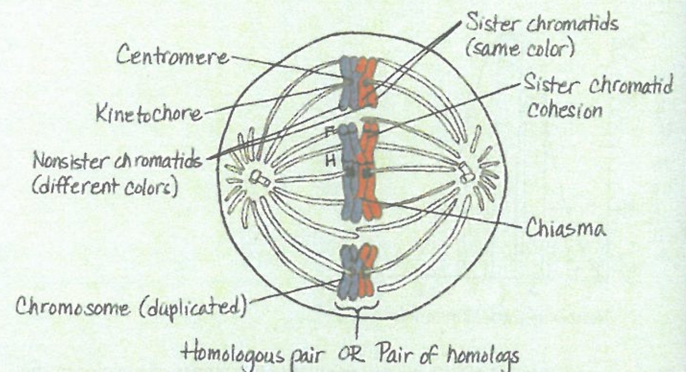
1. Mutations in a gene lead to the different versions (alleles) of that gene. **2.** Without crossing over, independent assortment of chromosomes during meiosis I theoretically can generate 2^n possible haploid gametes, and random fertilization can produce $2^n \times 2^n$ possible diploid zygotes. Because the haploid number (*n*) of grasshoppers is 23 and that of fruit flies is 4, two grasshoppers would be expected to produce a greater variety of zygotes than would two fruit flies. **3.** If the segments of the maternal and paternal chromatids that undergo crossing over are genetically identical and thus have the same two alleles for every gene, then the recombinant chromosomes will be genetically equivalent to the parental chromosomes. Crossing over contributes to genetic variation only when it involves the rearrangement of different alleles.

Summary of Key Concepts Questions

13.1 Genes program specific traits, and offspring inherit their genes from each parent, accounting for similarities in their appearance to one or the other parent. Humans reproduce sexually, which ensures new combinations of genes (and thus traits) in the offspring. Consequently, the offspring are not clones of their parents (which would be the case if humans reproduced asexually). **13.2** Animals and plants both reproduce sexually, alternating meiosis with fertilization. Both have haploid gametes that unite to form a diploid zygote, which then goes on to divide mitotically, forming a diploid multicellular organism. In animals, haploid cells become gametes and don't undergo mitosis, while in plants, the haploid cells resulting from meiosis undergo mitosis to form a haploid multicellular organism, the gametophyte. This organism then goes on to generate haploid gametes. (In plants such as trees, the gametophyte is quite reduced in size and not obvious to the casual observer.) **13.3** At the end of meiosis I, the two members of a homologous pair end up in different cells, so they cannot pair up and undergo crossing over. **13.4** First, during independent assortment in metaphase I, each pair of homologous chromosomes lines up independent of each other pair at the metaphase plate, so a daughter cell of meiosis I randomly inherits either a maternal or paternal chromosome. Second, due to crossing over, each chromosome is not exclusively maternal or paternal, but includes regions at the ends of the chromatid from a nonsister chromatid (a chromatid of the other homolog). (The nonsister segment can also be in an internal region of the chromatid if a second crossover occurs beyond the first one before the end of the chromatid.) This provides much additional diversity in the form of new combinations of alleles. Third, random fertilization ensures even more variation, since any sperm of a large number containing many possible genetic combinations can fertilize any egg of a similarly large number of possible combinations.

Test Your Understanding

8. (a)



(b) The chromosomes of one color make up a haploid set. (In cases where crossovers have occurred, a haploid set of one color may include segments of chromatids of the other color.) All red and blue chromosomes together make up a diploid set.
(c) Metaphase I **9.** This cell must be undergoing meiosis because homologous chromosomes are associated with each other at the metaphase plate; this does not occur in mitosis.

Chapter 14

Figure Questions

Figure 14.3 All offspring would have purple flowers. (The ratio would be one purple to zero white.) The P generation plants are true-breeding, so mating two purple-flowered plants produces the same result as self-pollination: All the offspring have the same trait.

دگرگونش

Evolution




@degar_goonesh


degar.goonesh

Mahsa badiee

مهسا بدیعی

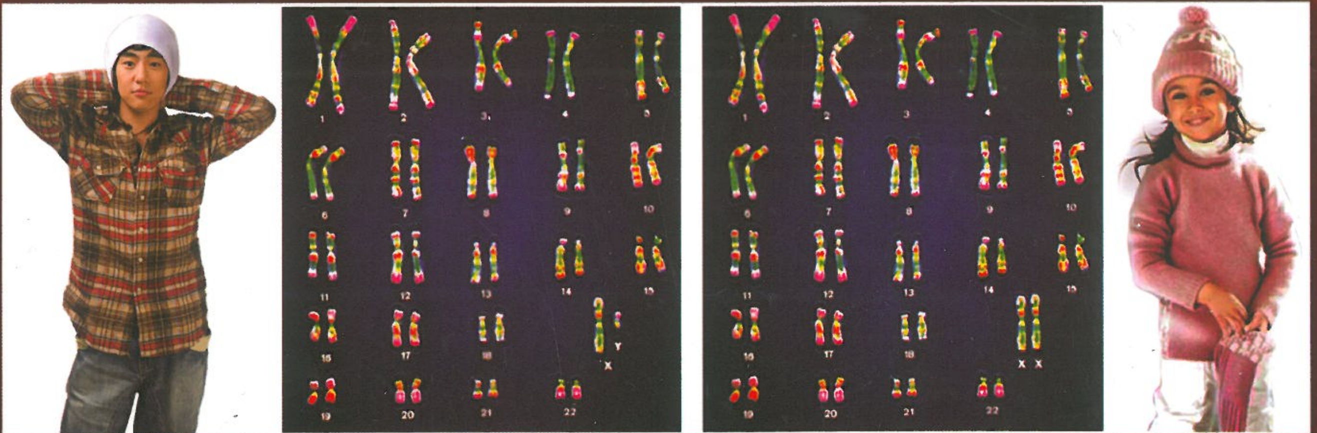
فرگشت یک فکت علمی است

CAMPBELL

BIOLOGY

NINTH EDITION

REECE • URRY • CAIN
WASSERMAN • MINORSKY • JACKSON





PEARSON



